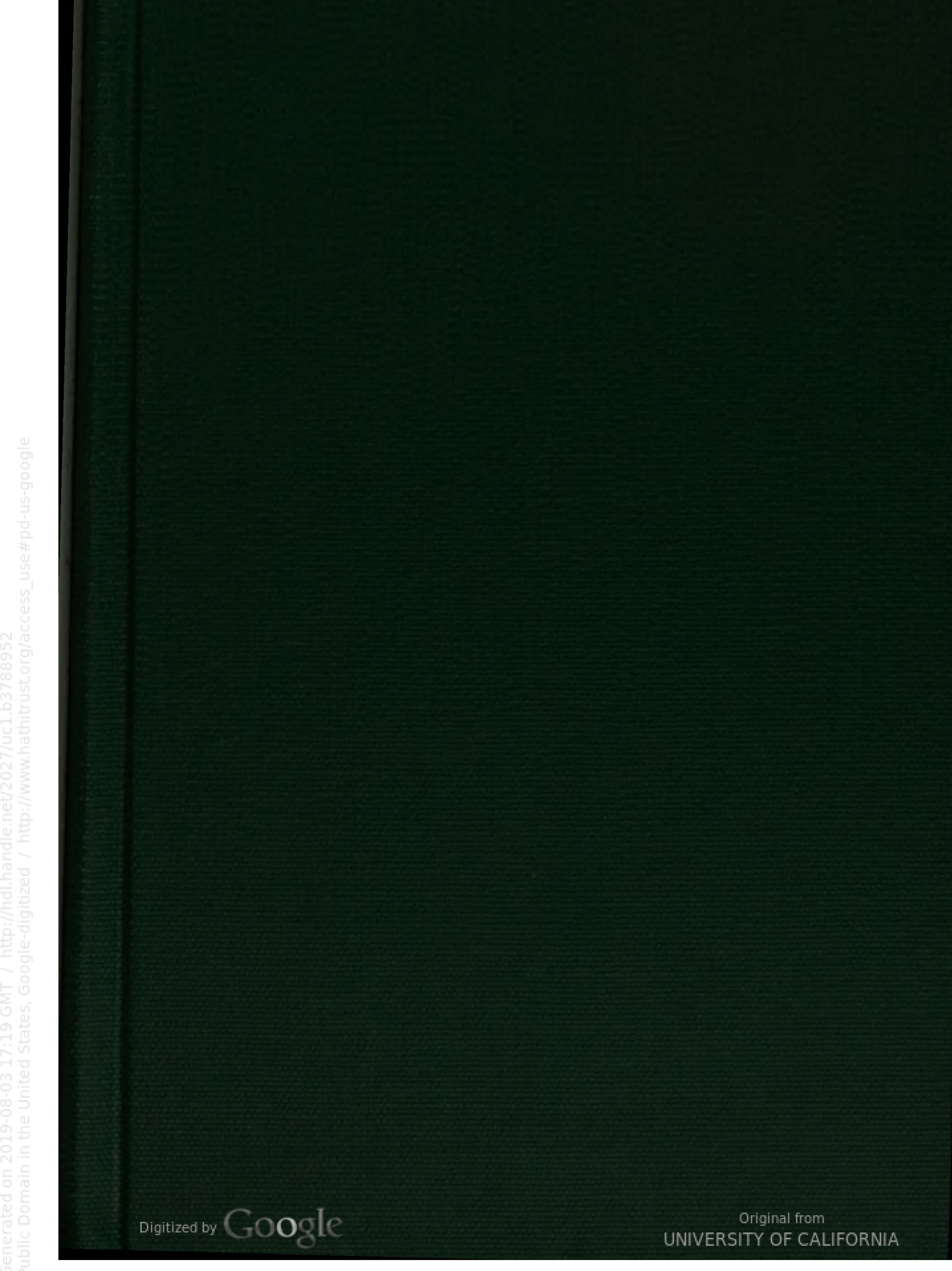
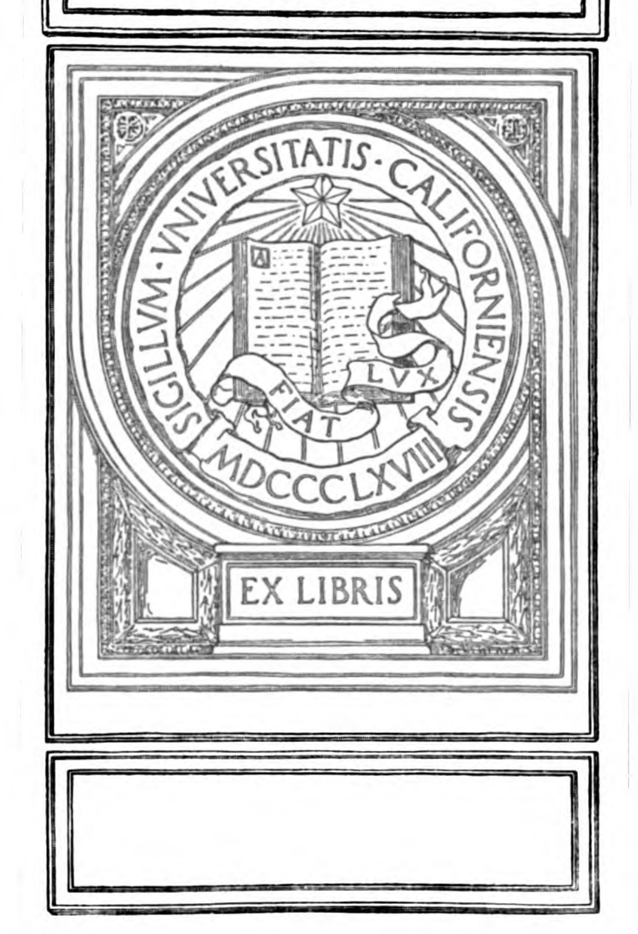





SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS

ZEITSCHRIFT
FÜR
HYGIENE
UND
INFEKTIONSKRANKHEITEN.

HERAUSGEGEBEN

VON

PROF. DR. C. FLÜGGE, GEH. MEDIZINALRAT UND DIREKTOR DES HYGIENISCHEN INSTITUTS DER UNIVERSITÄT BERLIN,

UND

PROF. DR. G. GAFFKY, GEH. OBERMEDIZINALRAT UND DIREKTOR DES INSTITUTS FÜR INFEKTIONSKRANKHEITEN ZU BERLIN.

SIEBZIGSTER BAND.

MIT ZAHLREICHEN ABBILDUNGEN IM TEXT UND ACHT TAFELN.



LEIPZIG

VERLAG VON VEIT & COMP.

1912

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.



Inhalt.



Die Rolle der Säugetiere bei der Verbreitung der Schlafkrankheit und Trypanosomenbefunde bei Säugetieren am Tanganyka.

Von

Prof. Dr. **F. K. Kleine** und Oberarzt **W. Fischer.**

(Hierzu Taf. I.)

Von großer Bedeutung für die Schlafkrankheitsbekämpfung ist zu wissen, welche Rolle die Säugetiere bei der Verbreitung der Menschenseuche spielen. Im Beginn der Schlafkrankheitsforschung wurde durch die englische Kommission die geringe Empfänglichkeit oder gar Resistenz verschiedenster Tiere gegenüber dem Tr. gambiense bei direkter Übertragung von Menschenblut festgestellt. Kleine[1] glaubte gelegentlich seiner Versuche über die geschlechtliche Entwicklung der Trypanosomen zu bemerken, daß die Infektion von Säugern leichter als durch das Blut kranker Menschen mittels Fliegen (Gl. palp.) gelänge, welche aus der Puppe gezüchtet und dann infiziert waren. Den Unterschied erklärte er sich durch eine gewisse Gewöhnung der im Entstehen begriffenen jungen Trypanosomen an das Tierblut, welche schon in der Fliege bei wiederholter Fütterung sich einstellte. Wenn hiernach auch theoretisch die Möglichkeit bestand, daß man gelegentlich in einer Schlafkrankheitsgegend mit Tr. gambiense infizierte Ochsen, Schafe, Ziegen usw. findet, so maß Kleine dem eine praktische Bedeutung nicht bei, weil sein Mitarbeiter Taute in zahlreichen Blutpräparaten von Rindern, Ziegen und Schafen

[1] Kleine, Weitere Beobachtungen über Tsetsefliegen und Trypanosomen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 45.



aus dem schwerverseuchten Flußgebiet des Mori niemals Trypanosomen sah. Im Verlauf von Untersuchungen, die Bruce, Hamerton, Bateman und Mackie[1] anstellten, um zu erfahren, wie lange Fliegen in einer verseuchten aber menschenleeren Gegend ihre Infektiosität bewahren, fanden sie noch einige Fliegen infektiös, obschon bereits 2 Jahre seit Entfernung der kranken Bevölkerung verstrichen waren. Für die Erklärung der interessanten Beobachtung kamen drei Möglichkeiten in Betracht: Mit Schlafkrankheit infizierte Menschen hatten trotz des Verbots das gesperrte Gebiet betreten; infizierte Fliegen können länger am Leben bleiben, als man es bisher von Insekten annahm, oder schließlich das Virus der Seuche vermag sich in Säugetieren — etwa in Antilopen — lebend und infektiös zu erhalten.

Daß Säuger der Infektion durch Fliegen im Laboratoriumsversuch zugänglich sind, wußte man, wie oben gesagt. Es fehlten aber vergleichende Beobachtungen über den Grad der Empfänglichkeit, auch wußte man nicht, ob die außerordentlich spärlichen Parasiten im Blute der Tiere ihrerseits wieder geeignet waren, Glossinen zu infizieren und wie lange. Hierüber Untersuchungen anzustellen erschien uns angesichts der Bruceschen Publikation um so notwendiger, als wie früher am verseuchten Mori so auch am Tanganykaufer zahlreiche Blutuntersuchungen von Rindern, Schafen usw., die unter natürlichen Bedingungen den Stichen infizierter Glossinen ausgesetzt waren, kein Tr. gambiense ans Licht brachten. Während wir mit Experimenten in dieser Richtung beschäftigt waren, kam eine neue Publikation Bruces[2] zu unserer Kenntnis, aus der wir ersahen, daß er durch Fliegen von einem Ochsen, dessen Blut Tr. gambiense enthielt, in zwei Fällen (unter 5) die Parasiten auf ein gesundes Tier übertragen hatte. Trotzdem setzten wir unsere Studien fort, da sie in ihren Details zu interessanten Ergebnissen führten.

Die Infektion verschiedener Haustiere (Schafe, Ziegen)[3] mit Schlafkrankheit versuchten wir zu erreichen, indem wir aus der Puppe gezüchtete Gl. palp. an einem schlafkranken Affen oder Menschen an

[1] Bruce, Hamerton, Bateman and Mackie, Sleeping Sickness in Uganda. Duration of the Infectivity of the Glossina palpalis after the removal of the Lake-shore population. *Rep. of the Sleeping Sickness Commission of the Royal Society.* 1910. Nr. X.

[2] Bruce, Hamerton, Bateman and Mackie, Experiments to ascertain if Cattle may act as Reservoir of the Virus of Sleeping Sickness (Tryp. gamb.). *Proceedings of the Royal Society B.* 1910. Vol. LXXXII.

[3] Von Rindern wie auch von Antilopen sahen wir ab, da wir nicht selten im Blute dieser Tiere Trypanosomen vom Typus des Tr. Theileri fanden und fürchteten, eine Kultur dieser Parasiten in den Gloss. palp. könne uns später eine Infektion der Fliegen mit dem Tr. gamb. vortäuschen.

4 aufeinander folgenden Tagen saugen ließen. Dann wurde einen Tag nicht gefüttert. Hierauf sogen die Fliegen zuerst 2 Tage lang an einem gesunden Hammel und sodann 28 Tage hindurch an einem zweiten gesunden Hammel. Durch diese Versuchsanordnung war eine Infektion des zweiten Tieres auf mechanischem Wege[1] vollkommen ausgeschlossen. Wurde der Hammel infiziert, so konnte es nur durch solche Trypanosomen geschehen sein, die in der Fliege eine geschlechtliche Entwicklung vollendet hatten. Nach unsern Erfahrungen dauert der Entwicklungsgang des Tr. gambiense in den Gl. palp. zum mindesten 18 Tage. Um die Zahl der infizierten Fliegen berechnen zu können, die als Infektionsträger in Betracht kamen, zählten wir am 18. Tag nach dem ersten Saugen am schlafkranken Menschen die Menge der noch im Experiment befindlichen Fliegen und untersuchten jede, die im Verlaufe der Zeit starb, mikroskopisch auf Trypanosomen. 35 Tage nach dem ersten Saugen am schlafkranken Menschen sollten alle überlebenden Glossinen getötet und mikroskopisch untersucht werden, wenn nicht etwa schon vorher eine Infektion der Versuchstiere eingetreten war.

Das Blut der Tiere wurde jeden zweiten Tag — jedesmal 20 Minuten lang — mikroskopisch untersucht. Da unsere außerordentlich einfache und sichere Untersuchungsmethode noch nicht allgemein geübt und geschätzt wird, sei sie hier noch einmal genau beschrieben. Der Gedanke der Methode stammt von R. Ross; in ihrem großen praktischen Wert erkannt und vereinfacht wurde sie von der R. Kochschen Schlafkrankheitsexpedition. — Man läßt auf die Mitte eines Objektträgers mehrere Blutstropfen fallen und zusammenfließen. Dann streicht man sie schnell mit einer Stahlfeder oder einem Messer so aus, daß eine dicke Schicht von der Größe und der Gestalt eines Zehnpfennigstücks (oder Schillings) entsteht. Wenn das Blut vollständig und gleichmäßig trocken ist, so werden die Präparate gefärbt, ohne daß der Blutfarbstoff vorher mit Wasser extrahiert oder irgend eine Härtung mit Alkohol usw. vorgenommen wäre. Wir färben entweder 10 Objektträger zusammen in einem Farbkästchen aus Glas oder jeden einzeln, indem wir ihn mit der Schichtseite nach unten auf ein Blockschälchen legen. Die Farblösung wird stets frisch hergestellt durch Zusatz von 0·4 ccm Eosin (1 prozentige Stammlösung) und 6 ccm Azur II (0·16 prozent. Lösung) zu 80 ccm destilliertes oder Regenwasser. Nach Verlauf von einer und einer halben Stunde wird jeder Objektträger vorsichtig in ein Glas gewöhnliches Wasser getaucht,

[1] Wir können übrigens auf Grund unserer experimentellen Resultate der mechanischen Übertragung irgend welchen Einfluß auf die Verbreitung der Schlafkrankheit nicht beimessen. (Vgl. Kleine, a. a. O.)



um die überschüssige Farbe abzuspülen, und zum Trocknen schräg aufgestellt. Das Wasser muß ablaufen und darf nicht mit Fließpapier von dem Präparat entfernt werden. Die mikroskopische Untersuchung nimmt man mit Ölimmersion ohne Anwendung eines Deckgläschens vor. Ob die Färbung geglückt ist — reine Gefäße und reines Wasser sind notwendig — erkennt man an der Farbe der Leukozytenkerne. In einem guten Präparat erscheinen sie schwarz oder blauschwarz. Bei einer größeren Reihe von Schlafkranken fand die Kochsche Expedition mit dieser Methode in 50 Prozent beim ersten Male Trypanosomen, eine zweite Untersuchung gab weitere 20 bis 28 Prozent positive Resultate und bis zur fünften Untersuchung waren fast alle Fälle positiv bis auf zwei, bei denen erst nach der siebenten und achten Untersuchung die Parasiten nachgewiesen werden konnten. — Da das Tr. gambiense im Blut der anderen Säugetiere meist spärlicher enthalten ist als im Blut der Menschen und besonders der Affen, so setzten wir, um Irrtümer auszuschließen, die Blutuntersuchungen bei unsern Versuchstieren in jedem Falle viele Wochen fort. Als bemerkenswert sei erwähnt, daß wir dreimal durch Verimpfen von 10 ccm Blut das Tr. gambiense auf Affen nicht übertragen konnten, während es im mikroskopischen Präparat festzustellen war.

Das erste Ergebnis unserer Untersuchungen war insofern überraschend, als es uns eine Zeit lang nicht gelang, unsere Tiere zu infizieren. In 17 Experimenten (Tabelle I) kamen insgesamt 524 Fliegen zur Verwendung, von denen nach 18 Tagen 484, nach 35 Tagen noch 428 am Leben waren. 12 Fliegen erwiesen sich als infiziert und trotzdem wurde die Seuche nicht in einem einzigen Falle auf die Versuchstiere übertragen.

Es erhob sich die Frage, sind die Säuger für die Infektion mit Tr. gambiense auch auf natürlichem Wege wenig empfänglich oder genügte die zeitliche Länge unserer Versuche nicht, um die infizierten Fliegen zu infektiösen werden zu lassen. Wenngleich wir nach eigenen Erfahrungen letzteres Bedenken ohne weiteres zurückweisen mußten, so nötigten doch Beobachtungen von Bruce[1] und seinen Mitarbeitern zur Vorsicht. Wir veränderten deshalb unsere Versuchsanordnung in der Weise, daß wir, nachdem man die Fliegen 28 Tage (2 + 26 Tage) an zwei gesunden Hammeln gefüttert hatte, sie 2 Tage lang einem gesunden Affen und dann wieder 2 Tage dem letzten Hammel ansetzten. Bekam der Affe Trypanosomen und der Hammel nicht, so erschien es als bewiesen, daß letzteres Tier der Infektion weniger zugänglich und die Dauer unserer

[1] Bruce, Hamerton, Bateman and Mackie, The Development of Trypanosomes in Tsetse Flies. *Proceedings of the Royal Society.* 1910.



Tabelle I.

Experiment-Nr.	Zahl der Fliegen bei Beginn des Versuches	Zahl der Fliegen am 18. Tage	Zahl der Fliegen am Ende des Versuches	Fütterung an infiziert. Menschen oder Affen Tage:	Fütterung an zwei gesunden Schafen od. Ziegen Tage:	Tiere infiziert	Mikroskopische Untersuchung	Bemerkungen
1	30	30	26	4	30	0	keine Fliege infiziert.	
2	29	29	29	4	30	0	„ „	
3	29	27	24	4	30	0	„ „	
4	31	30	30	4	30	0	2 Fliegen infiziert	
6	30	28	28	4	30	0	1 Fliege infiziert	
9	31	31	28	4	30	0	1 Fliege infiziert	
10	34	28	27	4	30	0	3 Fliegen infiziert	
11	31	30	28	4	30	0	keine Fliege infiziert	
12	33	32	31	4	30	0	1 Fliege infiziert	
13	35	32	29	4	30	0	keine Fliege infiziert	1 infizierte Fliege starb am 28. Tage d. Vers.
14	31	28	23	4	30	0	„ „	
15	28	27	25	4	30	0	„ „	
16	32	31	29	4	30	0	„ „	
17	31	28	27	4	30	0	„ „	
18	23	21	19	4	30	0	1 Fliege infiziert	
30	34	28	10	4	35	0	1 Fliege infiziert	
37	32	24	15	4	34	0	keine Fliege infiziert	1 infizierte Fliege starb am 11. Lebenstage. 1 infizierte Fliege starb am 23. Tage.

Versuche ausreichend war. — Dadurch daß wir die Fütterung am Affen zwischen die Fütterung am Hammel einschoben, verhinderten wir den Einwand, die Entwicklung der Trypanosomen habe erst nach Beendigung der Fütterung am Hammel ihren Abschluß erreicht und eine Infektion, die sich nur auf den Affen erstreckte, sei hierdurch genügend erklärt. Die Dauer der einzelnen Experimente verlängerte sich meist auf 37 Tage im ganzen. In einigen Fällen dehnten wir aber die Versuchszeit weiter aus, wie aus den Tabellen hervorgeht. Tabelle II führt die Experimente auf, in denen gar kein Tier infiziert wurde. In den Experimenten von Tabelle III wurden nur die Affen infiziert, während in denen von Tabelle IV Affen und Haustiere erkrankten. Die zeitliche Reihenfolge der Versuche zeigt ihre Numerierung.

Überblicken wir die 4 Tabellen, so ersehen wir, daß von 1772 Fliegen, die länger als 18 Tage lebten, nur 37 (2·1 Prozent) Trypanosomen enthielten, und von 1369, die nach mehr als 30 Tagen am Leben waren, enthielten 33 (2·4 Prozent) Trypanosomen. Bei früheren Experimenten[1], in denen wir vorwiegend an Affen und nicht an Schafen die Fliegen fütterten, waren gegen 10 Prozent der Glossinen infiziert; Affenblut und voraussichtlich dann in noch höherem Grade Menschenblut scheint hiernach auch in der Fliege ein besserer Nährboden für das Tr. gambiense zu sein als anderes Säugerblut.

Von 24 Versuchen, bei denen infizierten Fliegen meist viele Tage lang Gelegenheit geboten war, das Tr. gambiense auf Ziegen und Schafe zu übertragen, glückte dies nur in 4 Versuchen (16.7 Prozent). Und dabei handelte es sich um Trypanosomen, die von Anfang an nur mit Ziegenblut ernährt waren, also daran gewöhnt sein mußten.

Von 14 Versuchen dagegen, bei denen infizierten Fliegen jedesmal 2 Tage lang Gelegenheit geboten war, das Tr. gambiense auf Affen zu übertragen, glückte es in 13 Versuchen (92·9 Prozent), obwohl die Parasiten in den Fliegen von Anfang an mit Ziegenblut ernährt also nicht an Affenblut gewöhnt waren.

Diese Zahlen zeigen deutlich die verschiedene Empfänglichkeit der genannten Tiergattungen für das Tr. gambiense auch unter natürlichen Infektionsbedingungen. Das eigentliche Reservoir der Seuche bildet danach wohl in überwiegender Wichtigkeit der Mensch, wenn auch freilich Infektionen von Säugetieren vorkommen.

[1] Kleine, Weitere Untersuchungen über die Ätiologie der Schlafkrankheit. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 29.



Tabelle II.

Experiment-Nr.	Zahl der Fliegen bei Beginn des Versuches	Zahl der Fliegen am 18. Tage	Zahl der Fliegen am Ende des Versuches	Fütterung an infiziert. Menschen oder Affen Tage:	Fütterung an zwei gesunden Schafen od. Ziegen Tage:	Fütterung an einem gesunden Affen Tage:	Tiere infiziert	Mikroskopische Untersuchung	Bemerkungen
5	30	29	26	4	30	2	0	keine Fliege infiziert	
19	32	30	23	4	30	2	0	„ „	
20	26	10	8	4	30	2	0	„ „	Unter den Fliegen dieser Serie epidemieartig. Sterben.
21	33	19	18	4	30	2	0	„ „	
22	34	29	5	4	40	2	0	„ „	vgl. Nr. 20.
23	34	27	7	4	50	2	0	„ „	
24	31	26	10	4	50	2	0	„ „	
25	33	27	4	4	30	2	0	„ „	vgl. Nr. 20.
26	31	28	14	4	45	2	0	„ „	
27	33	29	6	4	40	2	0	„ „	vgl. Nr. 20.
28	29	25	10	4	40	2	0	„ „	
29	33	28	12	4	35	2	0	„ „	
31	33	22	12	4	40	2	0	„ „	
33	29	18	18	4	30	2	0	„ „	
34	33	26	23	4	30	2	0	„ „	
36	29	16	4	4	30	2	0	„ „	vgl. Nr. 20.
38	32	23	8	4	30	2	0	„ „	vgl. Nr. 20.
39	26	24	16	4	30	2	0	„ „	
41	29	18	9	4	30	2	0	„ „	
42	29	23	14	4	30	2	0	„ „	

Tabelle II. (Fortsetzung.)

Experiment-Nr.	Zahl der Fliegen bei Beginn des Versuches	Zahl der Fliegen am 18. Tage	Zahl der Fliegen am Ende des Versuches	Fütterung an infiziert. Menschen oder Affen Tage:	Fütterung an zwei gesunden Schafen od. Ziegen Tage:	Fütterung an einem gesunden Affen Tage:	Tiere infiziert	Mikroskopische Untersuchung	Bemerkungen
44	30	21	11	4	30	2	0	keine Fliege infiziert	
46	31	19	15	4	30	2	0	„ „	
48	27	20	18	4	30	2	0	„ „	
75	30	24	28	4	30	2	0	„ „	
77	30	28	28	4	30	2	0	„ „	
78	24	20	17	4	30	2	0	„ „	2 infiz. Flieg. † am 10. Tage.
79	30	28	25	4	30	2	0	„ „	1 infiz. Fliege † am 8. Tage.
88	30	27	22	4	30	2	0	1 Fliege infiziert	
89	30	26	25	4	30	2	0	keine Fliege infiziert	
93	31	30	26	4	30	2	0	„ „	
96	31	28	26	4	30	2	0	„ „	1 infiz. Fliege † am 15. Tage, 1 „ † „ 26. „ (hatten beide noch nicht am Affen gesogen).
98	30	29	28	4	30	2	0	„ „	
99	29	26	15	4	30	2	0	„ „	
100	32	29	26	4	30	2	0	„ „	1 infiz. Fliege † am 8. Tage.
101	30	27	24	4	30	2	0	„ „	
102	30	26	17	4	30	2	0	„ „	
104	30	24	22	4	30	2	0	„ „	
105	30	29	27	4	30	2	0	„ „	
106	30	28	26	4	30	2	0	„ „	

Tabelle III.

Experiment-Nr.	Zahl der Fliegen bei Beginn des Versuches	Zahl der Fliegen am 18. Tage	Zahl der Fliegen am Ende des Versuches	Fütterung an infiziert. Menschen oder Affen Tage:	Fütterung an zwei gesunden Schafen od. Ziegen Tage:	Fütterung an einem gesunden Affen Tage:	Tiere infiziert	Mikroskopische Untersuchung	Bemerkungen
7	29	27	27	4	30	2	1 Affe	1 Fliege infiziert	
8	28	26	22	4	30	2	1 „	2 Fliegen infiziert	
35	29	25	9	4	35	2	1 „	1 Fliege infiziert	1 infizierte Fliege starb am 24. Tage, 1 desgl. am 33. Tage
43	28	16	10	4	30	2	1 „	2 Fliegen infiziert	
47	31	27	25	4	30	2	1 „	2 Fliegen infiziert	1 infizierte Fliege starb am 17. Tage
74	30	30	30	4	30	2	1 „	1 Fliege infiziert	
80	31	28	28	4	30	2	1 „	1 Fliege infiziert	
84	29	28	27	4	30	2	1 „	2 Fliegen infiziert	
103	30	26	25	4	30	2	1 „	1 Fliege infiziert	

Tabelle IV.

Experiment-Nr.	Zahl der Fliegen bei Beginn des Versuches	Zahl der Fliegen am 18. Tage	Zahl der Fliegen am Ende des Versuches	Fütterung an kranken Menschen oder Affen Tage:	Fütterung an zwei gesunden Schafen od. Ziegen Tage:	Fütterung an einem gesunden Affen Tage:	Tiere infiziert	Mikroskopischer Befund	Bemerkungen
32	33	22	13	4	28	2[1]	der zweite Hammel 1 Affe	2 Fliegen infiziert	Bevor die Fliegen getötet wurden, wurde mit ihnen noch ein zweiter Hammel infiziert.
40	29	21	19	4	30	2	die zweite Ziege 1 Affe	3 Fliegen infiziert	Bevor die Fliegen getötet wurden, wurden mit ihnen noch zwei Schafe und eine Ziege infiziert.[2]
45	27	16	11	4	26	2[1]	der zweite Hammel 1 Affe	1 Fliege infiziert	
70	30	30	27	4	30	2	der zweite Hammel 1 Affe	2 Fliegen infiziert	

[1] An dem Affen wurden die Fliegen noch angesetzt, nachdem wir bereits die Infektion des Hammels bemerkt hatten, um zu erfahren, ob das für den Hammel infektiöse Tr. gambiense stets auch für den Affen infektiös ist. Das Umgekehrte ist, wie aus unseren Untersuchungen hervorgeht, nicht der Fall.

[2] Mit Tr. gambiense infizierte Fliegen, die für Säugetiere (Rinder, Schafe, Ziegen) einmal infektiös geworden sind, infizieren dann eine ganze Reihe Tiere. Daß das eine Tier weniger empfänglich ist als das andere, also bei der Fütterung der Fliegen an ihm nicht erkrankt, bemerkten wir nie.

Wie lange ein solches Tier, das einmal infiziert ist, als Infektionsquelle dienen kann, untersuchten wir in folgendem:

Die Experimente wurden in ähnlicher Weise angestellt wie die oben beschriebenen, nur dehnten wir die Versuchsdauer meist noch länger aus. Zunächst wurden 4 mal (an 4 Tagen) an den infizierten Säugern die aus der Puppe gezüchteten Fliegen gefüttert, dann hungerten sie einen Tag. Hierauf folgte 26 Tage lang (2 + 24 Tage) die Fütterung an zwei gesunden Hammeln oder Ziegen, dann 2 Tage lang Fütterung an einem gesunden Affen, 18 Tage lang wieder am Hammel, 2 Tage am Affen und zum Schluß nochmals 2 Tage Fütterung am Hammel. An dem darauf folgenden Tag wurden die Fliegen getötet und untersucht. Im Intervall 2 mal am Affen zu füttern, hielten wir in Anbetracht der langen Dauer der einzelnen Versuche für angezeigt, damit nicht etwa eine infizierte Fliege schon vor der Fütterung am Affen stürbe. Am besten lassen sich die Versuchsresultate überblicken, wenn wir für jedes einzelne infizierte Tier, an dem wir die Fliegen fütterten, eine eigene Tabelle aufstellen. Es wurden im ganzen 7 Tiere benutzt (siehe Tabellen V bis XI).

Von 911 Fliegen, die länger als 18 Tage lebten, waren 28 (3·1 Prozent) infiziert; von 774, die länger als 30 Tage lebten, 24 (3·1 Prozent). Bei 11 Experimenten, wo infizierte Fliegen an einem Affen gefüttert wurden, erkrankte in sieben Fällen der Affe (63·6 Prozent). Bei 15 Versuchen, wo infizierte Fliegen an einem Schaf oder einer Ziege viele Tage lang gefüttert wurden, erkrankte nur in drei Fällen das Schaf (20 Prozent). Dies Ergebnis stimmt mit dem oben angeführten ziemlich überein. Durch den mehrmonatigen Aufenthalt des Tr. gambiense im Schafblut (oder Ziegenblut) — im Tier selbst wie in der Fliege — hat sich die Virulenz des Parasiten für die Tiergattung kaum gesteigert, dagegen hat die Virulenz für den Affen abgenommen.

Wenn die Tiere der Tabellen V, VI und VII als Ausgangsmaterial dienten, gelang es überhaupt nicht, ein anderes Tier zu infizieren, obwohl am 18. Tage 316 und am 30. Tage noch 280 Fliegen am Leben waren. Aber auch bei den andern Ziegen und Schafen nimmt scheinbar mit der Länge der Zeit, die seit dem ersten Auftreten des Tr. gambiense im Blut verstreicht, seine Infektiösität ab. In Tabelle XII haben wir deshalb unsere Versuche nach der Zeitdauer geordnet, welche zwischen der Infektion des Ausgangtiers und der Fliegenfütterung liegt, und wir sehen, daß in den letzten 12 Versuchen überhaupt kein Tier infiziert wurde. Dabei lebten in jenen 12 Versuchen 318 Fliegen länger als 18 und 291 länger als 30 Tage. Auf die interessante Frage, ob das Tr. gambiense mit einem längeren Aufenthalt im Säugetierkörper an Infektionsfähigkeit verliert, gedenken wir in weiteren Experimenten zurückzukommen.



Tabelle V. Ziege 89 (zuerst Trypanosomen im Blut am 4. IX. 1910).

Experiment-Nr.	Beginn des Versuchs	Trypanosomenbefund im Blut (dicken Tropfen)	Zahl der Fliegen bei Beginn	am 18. Tage	am 30. Tage	am 40. Tage	am 56. Tage	Fütterung am kranken Ausgangstier Tage	Fütterung an 2 gesunden Schafen oder Ziegen Tage	Fütterung an gesunden Affen Tage	Tiere infiziert	Mikroskopischer Befund am Ende des Versuchs	Bemerkungen
50	15.IX. 10.	vereinzelte	59	35	20	—	—	4	30	2	0	keine Fliege infiziert	Versuch nach 37 Tagen beendet. 1 infizierte Fliege starb am 14 Tage. 1 „ „ „ „ 20. „ (Also vor der Fütterung am Affen.)
54	18.X. 10.	„	50	34	30	—	—	4	30	2	0	desgl.	Versuch nach 37 Tagen beendet.
58	16.XI. 10.	„	30	23	20	18	17	4	46	2×2	0	1 Fliege infiziert	1 infizierte Fliege starb am 37. Tage. 1 „ „ „ „ 32. „ Beide Affen starben spontan an akuter Krankheit, ehe sie infiziert sein konnten.
66	8.XII. 10.	„	33	23	23	19	19	4	46	2×2	0	keine Fliege infiziert	
71	29.XII. 10.	keine	30	28	28	25	20	4	46	2×2	0	desgl.	
92	1.II. 11.	vereinzelte	31	28	25	17	14	4	46	2×2	0	„	

Tabelle VI. Schaf 129 (zuerst Trypanosomen im Blut am 24. IX. 1910).

Experiment-Nr.	Beginn des Versuchs	Trypanosomenbefund im Blut	bei Beginn	am 18. Tage	am 30. Tage	am 40. Tage	am 56. Tage	Fütterung am kranken Ausgangstier Tage	Fütterung an 2 gesunden Schafen oder Ziegen Tage	Fütterung an gesunden Affen Tage	Tiere infiziert	Mikroskopischer Befund am Ende des Versuchs
59	20.XI. 10.	vereinzelte	30	23	22	22	16	4	46	2×2	0	keine Fliege infiziert
67	19.XII. 10.	„	30	26	24	24	20	4	46	2×2	0	desgl.
76	5.I. 11.	„	30	26	25	24	19	4	46	2×2	0	„
95	7.II. 11.	„	30	26	23	20	18	4	46	2×2	0	„

Tabelle VII. Schaf 4 (zuerst Trypanosomen im Blut am 24. IX. 1910).

Experiment-Nr.	Beginn des Versuchs	Trypanosomenbefund im Blut	bei Beginn	am 18. Tage	am 30. Tage	am 40. Tage	am 56. Tage	Fütterung am kranken Ausgangstier Tage	Fütterung an 2 gesunden Schafen oder Ziegen Tage	Fütterung an gesunden Affen Tage	Tiere infiziert	Mikroskopischer Befund am Ende des Versuchs
61	3.XII. 10.	vereinzelte	30	17	14	14	12	4	46	2×2	0	keine Fliege infiziert
68	25.XII. 10.	„	30	27	26	25	20	4	46	2×2	0	desgl.

Tabelle VIII. Hammel 25 (zuerst Trypanosomen im Blut am 21. VIII. 1910).

Experiment-Nr.	Beginn des Versuchs	Trypanosomenbefund im Blut (dicken Tropfen)	Zahl der Fliegen bei Beginn	am 18. Tage	am 30. Tage	am 40. Tage	am 56. Tage	Fütterung am kranken Ausgangstier Tage	Fütterung an 2 gesunden Schafen oder Ziegen Tage	Fütterung an gesunden Affen Tage	Tiere infiziert	Mikroskopischer Befund am Ende des Versuchs	Bemerkungen
49	25. VIII 10.	vereinzelte	60	36	13	—	—	4	30	2	0	1 Fliege infiziert	Versuch nach 37 Tagen beendet. 1 infizierte Fliege starb am 16. Tage.
53	12. X. 10.	„	50	38	26	—	—	4	30	2	Der Affe	2 Fliegen infiziert	Versuch nach 37 Tagen beendet.
57	9. XI. 10.	spärliche	55	45	39	31	—	4	38	2	Der Affe	1 Fliege infiziert	Der Versuch wurde am 45. Tage abgebrochen, als sich beim Affen, an dem 12 Tage vorher die Fliegen gefüttert waren, Trypanosomen zeigten.
63	6. XII. 10.	vereinzelte	30	21	18	14	14	4	46	2×2	0	keine Fliege infiziert	1 infizierte Fliege starb am 29. Tage, (also vor der Fütterung an Affen).
72	30. XII. 10.	„	30	26	23	17	11	4	46	2×2	0	desgl.	
94	5. II. 11.	1 Trypanosoma	30	28	23	16	13	4	46	2×2	0	„	

Tabelle IX. Hammel 8 (zuerst Trypanosomen im Blut am 4. IX. 1910).

Experiment-Nr.	Beginn des Versuchs	Trypanosomenbefund im Blut (dicken Tropfen)	Zahl der Fliegen bei Beginn	am 18. Tage	am 30. Tage	am 40. Tage	am 56. Tage	Fütterung am kranken Ausgangstier Tage	Fütterung an 2 gesunden Schafen oder Ziegen Tage	Fütterung an gesunden Affen Tage	Tiere infiziert	Mikroskopischer Befund am Ende des Versuchs	Bemerkungen
51	24. IX. 10.	mehrere	50	24	15	—	—	4	30	2	Das 2. Schaf u. der Affe	1 Fliege infiziert	Versuch nach 37 Tagen beendet.
55	21. X. 10.	„	48	39	34	—	—	4	30	2	Der Affe	1 Fliege infiziert	desgl.
64	12. XII. 10.	„	30	25	22	21	—	4	38	2	Der Affe	3 Fliegen infiziert	Der Versuch wurde am 45. Tage abgebrochen, als sich beim Affen, an dem 12 Tage vorher die Fliegen gefüttert waren, Trypanosomen zeigten. 1 infizierte Fliege starb am 10. Tage.
73	1. I. 11.	keine	30	29	28	28	25	4	46	2×2	0	1 Fliege infiziert	

Tabelle X. Ziege 73 (zuerst Trypanosomen im Blut am 18. IX. 1910).

Experiment-Nr.	Beginn des Versuchs	Trypanosomenbefund im Blut (dicken Tropfen)	Zahl der Fliegen bei Beginn	am 18. Tage	am 30. Tage	am 40. Tage	am 56. Tage	Fütterung am kranken Ausgangstier Tage	Fütterung an 2 gesunden Schafen oder Ziegen Tage	Fütterung an gesunden Affen Tage	Tiere infiziert	Mikroskopischer Befund am Ende des Versuchs	Bemerkungen
52	2.X. 10.	vereinzelte	45	36	31	—	—	4	30	2	0	keine Fliege infiziert	Versuch nach 37 Tagen beendet. 1 infizierte Fliege starb am 21. Tage.
56	2.XI. 10.	„	55	43	34	30	23	4	46	2×2	Das 2. Schaf u. 1 Affe	1 Fliege infiziert	Zur Fütterung am Affen wurde zweimal derselbe Affe benutzt. Beim ersten Male wurde er nicht infiziert. 1 infizierte Fliege starb am 36. Tage. 1 „ „ „ „ 43. „
62	5.XII. 10.	„	31	25	21	21	20	4	46	2×2	0	keine Fliege infiziert	
69	27.XII. 10.	„	30	23	22	21	18	4	46	2×2	0	1 Fliege infiziert	1 infizierte Fliege starb am 46. Tage.
82	14.I. 11.	„	30	28	25	21	14	4	46	2×2	0	keine Fliege infiziert	1 infizierte Fliege starb am 9. Tage.
91	30.I. 11.	„	29	27	24	22	18	4	46	2×2	0	desgl.	

Tabelle XI. Schaf 108 (zuerst Trypanosomen im Blut am 26. X. 1910).

Experiment-Nr.	Beginn des Versuchs	Trypanosomenbefund im Blut (dicken Tropfen)	Zahl der Fliegen bei Beginn	am 18. Tage	am 30. Tage	am 40. Tage	am 56. Tage	Fütterung am kranken Ausgangstier Tage	Fütterung an 2 gesunden Schafen oder Ziegen Tage	Fütterung an gesunden Affen Tage	Tiere infiziert	Mikroskopischer Befund am Ende des Versuchs	Bemerkungen
60	29.XI. 10.	mehrere	31	19	18	14	11	4	46	2×2	0	1 Fliege infiziert	1 infizierte Fliege starb am 31. Tage. 1 „ „ „ „ 29. „
65	22.XII. 10.	vereinzelte	30	27	24	—	—	4	28	2	Das 2. Schaf u. der Affe	4 Fliegen infiziert	Der Versuch wurde abgebrochen als sich bei dem 2. Schaf Trypanosomen zeigten.
81	12.I. 11.	„	30	28	27	26	16	4	46	2×2	0	keine Fliege infiziert	
97	11.II. 11.	„	30	28	27	27	24	4	46	2×2	0	desgl.	



Tabelle XII.

Vers.-Nr.	Tage zwischen dem ersten Erscheinen der Trypanosomen beim Versuchstier und dem Beginn der Fliegenfütterung an ihm	Resultate des Versuches		
		Fliegen infiziert	Affe infiziert	Ziege oder Schaf infiziert
49	4	+	0	0
50	11	+	—	0
52	14	+	—	0
51	20	+	+	+
60	34	+	0	0
54	36	0	0	0
56	45	+	+	+
55	47	+	+	0
53	52	+	+	0
65	57	+	+	+
59	57	0	0	0
61	67	0	0	0
58	73	+	—	0
81	78	0	0	0
62	78	0	0	0
57	80	+	+	0
67	86	0	0	0
68	92	0	0	0
66	95	0	0	0
64	99	+	+	0
69	100	+	0	0
76	103	0	0	0
63	107	+	—	0
97	108	0	0	0
71	116	0	0	0
82	118	0	0	0
73	119	+	0	0
72	131	0	0	0
91	134	0	0	0
95	136	0	0	0
92	150	0	0	0
94	168	0	0	0

In jüngster Zeit ist von David Bruce[1] und seinen Mitarbeitern eine Arbeit veröffentlicht, deren Ergebnisse von den unsrigen erheblich abweichen. Die Leichtigkeit mit der man nach diesen Autoren Antilopen durch den Stich infektiöser Gl. palp. mit Tr. gambiense infizieren und anderseits wiederum an erkrankten Antilopen reine Gl. palp. infizieren kann, ist so erheblich, daß — wie das Bulletin des Sleeping Sickness Bureau, Nr. 25, 1911 meint — in einer fliegenreichen Gegend eine infizierte Antilope für die Nachbarschaft eine höhere Gefahr bedeuten würde als ein schlafkranker Mensch. Die Versuchsanordnung der englischen Gelehrten unterscheidet sich von unserer hauptsächlich insofern, als sie die Fliegen nach dem Saugen an den infizierten Antilopen vorwiegend an Affen fütterten, während wir Schafe und Ziegen benutzten. Wir taten dies in der Annahme, daß dort, wo Menschen leben, in der Regel das Wild zurückweicht und die Fliegen auf eine oder die andere Nahrungsquelle angewiesen sind (also in unserm Falle auf Affen oder Ziegen). Diese Differenz ist aber nicht genügend, um den Unterschied der Versuchsresultate zu erklären. Wir werden deshalb unsere Untersuchungen in einer andern Weise fortsetzen.

Trypanosomenbefunde bei Tieren.

Bei dem Bestreben im Blut von Haustieren am Tanganykaufer das Tr. gambiense nachzuweisen, waren zwei Trypanosomenarten festgestellt worden, die an anderer Stelle beschrieben sind; das Tr. bovis, welches vielleicht dem Tr. cazalboui nahesteht, und das Tr. caprae, ein Parasit mit erheblichen Unterschieden der Größe und dimorphem Typus. Wegen dieser unvermuteten Befunde beschlossen wir die Blutuntersuchungen auch auf Tiere auszudehnen, die nicht unmittelbar am Seeufer sondern etwas landeinwärts leben. Die nachstehend geschilderten Trypanosomen sahen wir 4 Tagemärsche östlich von Udjidji am Flusse Rutschugi.

In unmittelbarer Nähe des Flusses wurden an einem völlig fliegenfreien Platze Tierställe und die sonst nötigen Unterkunftsräume errichtet. Die zum Überimpfen infektiösen oder verdächtigen Bluts nötigen Versuchstiere, meist Schafe, Ziegen, Affen, Hunde, auch einige Kälber, ließen wir durch den breiten Tsetsegürtel (Gl. mors.) aus Udjidji in fliegensichern, großen Käfigen herbeischaffen. Oder wir sandten infizierte Tiere in solchen Käfigen nach Udjidji, wo dann die weiteren Blutübertragungen

[1] Bruce, Hamerton and Bateman, Experiments to ascertain if Antelope may act as a reservoir of the virus of Sleeping Sickness. *Proceedings of the Royal Society.* 1911. B. 564. p. 311—327.



vorgenommen wurden. Untersuchungen des Wildes waren möglich, da uns in der Person des Sanitätssergeanten Knaak ein unermüdlicher und selten fehlender Jäger zur Verfügung stand. Knaak führte auf der Jagd in kleinen mit nasser Holzwolle gefüllten, offenen Kisten große weithalsige Flaschen mit sich, die einige Dutzend Glasperlen enthielten. Das Herzblut des verendeten Wildes wurde in die Flasche entleert, schnell durch Schütteln defibriniert und mit Eilboten zum Lager am Rutschugi gesendet, wo die mikroskopische Untersuchung[1] und die weitere Verarbeitung stattfand. Schon 3 bis 7 Stunden nach dem Verenden des Wildes pflegte das Blut einzutreffen, immer in tadellosem Zustand. Daß von der umgebenden Holzwolle verdunstende Wasser hatte die Temperatur niedrig gehalten und so ein zu schnelles Eintreten der Fäulnis verhindert. Es wurden im ganzen untersucht:

26 Pferdeantilopen; davon waren 7 mit Trypanosomen infiziert. Soweit die Tierimpfungen angingen, handelte es sich um die weiter unten unter Nr. 1 beschriebenen Trypanosomen. Dem mikroskopischen Befund zufolge waren aber auch sicher andere dabei (Mischinfektionen), deren Überimpfung nicht gelang.

8 Leierantilopen.

2 Wasserböcke. Der eine enthielt ein nicht weiter untersuchtes Trypanosoma, der zweite das unter Nr. 3 beschriebene.

1 Buschbock, der die unter Nr. 3 beschriebenen Trypanosomen enthielt.

13 Riedböcke; darunter waren 3 mit den unter Nr. 1 beschriebenen Trypanosomen infiziert, außerdem zwei mit einem Parasiten von dem Typus des Tr. theileri.

4 Schweine. Eins war mit einem nicht näher untersuchten Trypanosoma infiziert.

Außer diesem Wild wurden die Haustiere der Eingeborenen, meist Ziegen und Schafe, untersucht, gelegentlich auch Rinder, welche als Schlachtvieh aus der Landschaft Uha kamen und einen Tsetsegürtel passiert hatten.

Zur Unterscheidung oder Identifizierung verschiedener Trypanosomenarten erscheint — wenn nicht schon von vornherein morphologische Eigentümlichkeiten in die Augen fallen — ganz besonders die subkutane Blutübertragung geeignet. Nach unsern Erfahrungen sind die mit dieser Methode zu erreichenden Resultate ziemlich gleichmäßig und befriedigend, sofern man eine genügende Zahl Versuchstiere verwendet. Die Prüfung

[1] Das Blut wurde meist im großen, dicken, ungehärteten, nach Romanowsky gefärbten Tropfen untersucht. Bei defibriniertem Blut bietet das Anfertigen der Präparate einige Schwierigkeit.



eines Trypanosoma durch Verimpfung auf ein Tier, das gegen eine bestimmte Trypanosomenart immunisiert ist, bietet dagegen schon deshalb außerordentliche Schwierigkeiten, weil man Tiere gegen ein für sie wirklich pathogenes Trypanosoma kaum immunisieren kann. Noch nach langer Zeit gehen scheinbar immune Tiere an der Infektion zugrunde, insbesondere wenn irgendwelche äußere ungünstige Verhältnisse ihre Widerstandskraft herabsetzen. Von intraperitonealen Injektionen sahen wir bei der Prüfung der gefundenen Trypanosomen absichtlich ganz ab, um die Resultate möglichst eindeutig zu gestalten. Denn bekanntlich kann man gerade bei der Anwendung größerer Intraperitonealinjektionen gewisse Trypanosomen gelegentlich noch vorübergehend auf Tiere übertragen, die sonst für jene Parasiten nicht empfänglich sind. Wir verimpften subkutan 5 bis 20 ccm Blut auf die einzelnen Versuchstiere je nach ihrer Größe. Die nachstehend beschriebenen Parasiten, die wir auf diese Weise feststellten, wurden in ihren Passagen mindestens 8 Monate lang beobachtet.

1. Natürliche Infektionen von Schafen, Pferdeantilopen und Riedböcken. Kleines Trypanosoma ohne freie Geißel oder mit ganz kurzer freier Geißel (s. Taf. I, Fig. 1—9). Das Hinterende ist abgerundet. Der Kern liegt ungefähr in der Mitte; der Blepharoblast am Hinterende oder nahe an ihm. Die undulierende Membran ist wenig ausgebildet. Die Länge der Trypanosomen schwankt zwischen 9·3 bis 16·8 μ, der Durchschnitt beträgt 14·3 μ. Die Breite schwankt zwischen 0·9 und 2·1 μ. Im lebenden Präparat bewegen sich die Parasiten auf der Stelle und gehen nicht durch das Gesichtsfeld. — Die Überträgerin ist die Glossina morsitans.

Die Trypanosomen wurden im Laufe der Zeit verimpft auf 6 Rinder, 16 Ziegen, 4 Schafe, 4 Affen und 20 Hunde. Rinder, Ziegen, Schafe waren in jedem Falle empfänglich, Hunde und Affen stets refraktär. Einige Ziegen starben unter Abmagerung und den Zeichen großer Schwäche etwa 2 Monate nach der Infektion.

Wir nahmen an, daß der beschriebene Parasit dem Trypanosoma nanum nahesteht.

2. Natürliche Infektion von 2 Hunden. Kleine Trypanosomen ohne freie Geißel, selten mit ganz kurzer freier Geißel (s. Taf. I, Fig. 12—19). Das Hinterende ist stumpf. Der Kern liegt in der Regel in der Mitte des Körpers; der Blepharoblast liegt unmittelbar an oder kurz vor dem Hinterende. Die undulierende Membran ist schmal. Die Länge der Trypanosomen schwankt zwischen 14·1 und 17·8 μ, der Durchschnitt beträgt 16·1 μ. Die Breite schwankt zwischen 1·4 und 2·3 μ. Im lebenden Präparat bewegen sich die Parasiten auf der Stelle und gehen

nicht durch das Gesichtsfeld. Die Überträgerin ist die Glossina morsitans. Die Trypanosomen sind morphologisch von denen unter 1. beschriebenen nicht zu unterscheiden.

Rinder, Schafe, Ziegen, Affen und Hunde sind hoch empfänglich. Hunde starben in einigen Wochen nach starker Abmagerung mit enormer Milzvergrößerung und Ödemen am Bauch. Auch Ziegen gingen vielfach schon nach 3 Wochen ein.

Wir nehmen an, daß der beschriebene Parasit dem Trypanosoma congolense nahesteht.

3. Natürliche Infektion bei einem Wasserbock, einem Buschbock und einem Maultier. Große schmale Trypanosomen mit langer freier Geißel und dicke breite mit ganz kurzer freier Geißel (s. Taf. I, Fig. 20 bis 27). Das Hinterende der schmalen Form ist zugespitzt. Der Kern liegt ungefähr in der Mitte des Leibes, der Blepharoblast in der Regel in einiger Entfernung vor dem Hinterende. Die undulierende Membran ist wohl ausgebildet, und die freie Geißel überragt den Körper um $^1/_3$ bis $^1/_2$ seiner Länge. Die Länge dieser Parasiten schwankt zwischen 28·5 und 38.9 μ; der Durchschnitt beträgt 32.4 μ. Die Breite schwankt zwischen 1·4 und 2·3 μ. — Das Hinterende der breiten Form ist abgerundet, ihre Länge schwankt zwischen 16·8 und 22·5 μ, der Durchschnitt beträgt 19·7 μ. Die Breite schwankt zwischen 1·8 bis 3·7 μ. — Dieser Dimorphismus ist auch in demselben Tier nicht an jedem Tage in gleicher Weise ausgeprägt. Bisweilen sieht man reichlicher schlanke, dann wieder reichlicher breite Parasiten; dazwischen liegen alle Übergangsformen verschiedener Größe. Häufig ist ein Dimorphimus schwer zu konstatieren; mittelgroße und mittelbreite Trypanosomen mit mäßig langer freier Geißel beherrschen so das mikroskopische Bild, daß man nach den dünnen langgeißligen und den dicken kurzgeißligen Exemplaren lange suchen muß. Im großen und ganzen scheint es, als ob die Geißeln bei chronischer Infektion kürzer, bei raschem Überimpfen von Tier zu Tier dagegen länger werden. Im lebenden Präparat bewegen sich die Parasiten willkürlich quer durch das Gesichtsfeld, doch ist die Beweglichkeit nicht immer die gleiche. Wahrscheinlich sind die im Blut vorhandenen Antikörper der Bewegung zeitweise hinderlich. So sahen wir einmal bei einem Hunde eine allgemeine Bewegung am Platze; die Trypanosomen blieben überall untereinander und an den Blutkörperchen kleben und suchten vergebens sich loszureißen. Wenige Tage darauf war die Beweglichkeit die alte, d. h. die Parasiten gingen mehr oder weniger schnell quer durch das Gesichtsfeld. Die Überträgerin ist die Glossina morsitans.



Empfänglich für das Trypanosoma sind Rinder, Schafe, Ziegen, Hunde, Affen, also wahrscheinlich auch die kleineren Versuchstiere. Die Pathogenität der Parasiten zeigte sich bei den Rindern, Schafen und Ziegen insbesondere in ihrer starken Abmagerung. Einige Ziegen starben in Monatsfrist. Die Milz zweier Rinder, die 2 Monate nach der Infektion geschlachtet wurden, war mäßig vergrößert. Etliche Lymphdrüsen waren hämorrhagisch verändert. Bei Hunden sahen wir erheblichere Krankheitserscheinungen. Es traten nach kurzem Schwellungen des Kopfes auf, Trübung der Kornea, Ödeme in den Bauchdecken, starke Abmagerung. Der Tod erfolgte in der Regel nach 3 bis 8 Wochen. Bei der Autopsie war die enorme Milzvergrößerung besonders auffällig.

Bei dem wechselnden Bild des mikroskopischen Befundes, das auffälliger wird, wenn man den Stamm auf eine differente Tierart, also z. B. von einem Buschbock auf einen Hund verimpft, legten wir uns die Frage vor, ob es sich überhaupt um ein einheitliches Trypanosoma oder um eine Mischinfektion handelt. Wir entschieden uns für die erste Annahme, da wie gesagt zwischen den einzelnen Formen — heute mehr, morgen weniger — Übergänge zu sehen sind und wir bisher niemals in irgend einem Tier eine der beiden Trypanosomenformen beim Weiterimpfen als allein vorhanden feststellen konnten. Die geißellose Form unseres Parasiten ist größer und breiter als das geißellose unter Nr. 2 beschriebene Trypanosoma.

Welchem der bekannten „dimorphen" Trypanosomen unser Parasit nahesteht oder mit wem er identisch ist, wollen wir vorläufig dahingestellt sein lassen. Neuerdings wird ja auch der Dimorphismus des Trypanosoma brucei ausdrücklich betont. Es scheint überhaupt als wenn alle Trypanosomen einen gewissen Dimorphismus zeigen, der bei großen Arten naturgemäß mehr in die Augen fällt als bei den kleinen Arten.

Beiträge zur Biologie der Glossina palpalis.

Lebensdauer der Glossinen in der Gefangenschaft.

Bei einem früheren Experiment[1] über den Einfluß der Ernährung auf die Lebensdauer waren im Verlauf von 4 Wochen bei Fütterung an Kaltblütern 37·8 Prozent männliche und 19·8 Prozent weibliche Fliegen gestorben, bei der Fütterung an Warmblütern 16·2 Prozent männliche und 9·9 Prozent weibliche. Wir sahen damals, daß die Sterblichkeit der männlichen Fliegen die der weiblichen weit überstieg. Um die Lebens-

[1] Kleine. Trypanosomenbefunde am Tanganyka und andere Beobachtungen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1910. Nr. 30.



dauer[1] zu bestimmen, nahmen wir mit einigen Glossina palpalis, die im Laboratorium gezüchtet waren, folgende Versuche vor:

1. 10 männliche, eben aus der Puppe geschlüpfte Glossinen wurden — auf mehrere Gläser verteilt — an einer Ziege täglich gefüttert. Die Lebensdauer betrug durchschnittlich 49·4 Tage. Eine Fliege lebte 70 Tage.

2. 10 weibliche, eben aus der Puppe geschlüpfte Fliegen wurden an einer Ziege täglich gefüttert. Die Lebensdauer betrug durchschnittlich 140·8 Tage. Eine Fliege lebte 205 Tage.

3. 9 männliche und 9 weibliche, eben aus der Puppe geschlüpfte Fliegen wurden, die Geschlechter gemischt, an einer Ziege täglich gefüttert. Die Lebensdauer der männlichen Fliegen betrug durchschnittlich 60·9 Tage. Eine Fliege lebte 99 Tage. — Die Lebensdauer der weiblichen Fliegen betrug durchschnittlich 145·3 Tage. Eine Fliege lebte 227 Tage. In den letzten Wochen vor ihrem Tode brachte sie keine Larven mehr zur Welt.

Die weiblichen Glossinen lebten somit dreimal so lange als die männlichen. Ein deutlicher Unterschied der Lebensdauer von Individuen, die sich gepaart hatten, und solchen, die nach den Geschlechtern gleich nach der Geburt getrennt waren, trat nicht zutage.

Einfluß der Luftfeuchtigkeit auf die Sterblichkeit der Glossina palpalis.

Im Mai 1910	starb. von	478	gezücht., im Vers. befindl. Flieg.	21 =	4·39	Proz.
„ Juni	„ „ „	759	„ „ „ „ „	85 =	11·30	„
„ Juli	„ „ „	830	„ „ „ „ „	151 =	18·19	„
„ August	„ „ „	750	„ „ „ „ „	292 =	38·93	„
„ Sept.	„ „ „	437	„ „ „ „ „	174 =	39·82	„
„ Okt.	„ „ „	272	„ „ „ „ „	87 =	31·99	„
„ Novbr.	„ „ „	292	„ „ „ „ „	73 =	25·00	„
„ Dezbr.	„ „ „	559	„ „ „ „ „	99 =	17·71	„
„ Jan. 1911	„ „	939	„ „ „ „ „	87 =	9·27	„
„ Febr.	„ „ „	1164	„ „ „ „ „	84 =	7·22	„
„ März	„ „ „	678	„ „ „ „ „	77 =	11·36	„
„ April	„ „ „	—	„ „ „ „ „		—	

[1] Angeregt durch eine Mitteilung von E. E. Austen im *Bulletin des Sleeping Sickness Bureau.* Nr. 12. S. 457.



Im Mai 1910 waren die letzten Niederschläge der großen Regenzeit erfolgt. Die Witterung blieb zunächst verhältnismäßig kühl und frisch. Vom Juli an nahmen Trockenheit und Hitze allmählich zu und erreichten ihren Höhepunkt im September. Im Oktober fiel wieder der erste Regen, wöchentlich etwa ein bis zweimal, bis dann von Mitte November an regelmäßig stärkere Niederschläge erfolgten. Zu diesen geschilderten Witterungsverhältnissen stand die Sterblichkeit der gezüchteten, im Versuch befindlichen Glossinen in einem bestimmten Verhältnis. In den Regenmonaten war die Mortalität (vgl. Tabelle) eine geringe, während sie in den trockenen Monaten eine ziemliche Höhe erreichte. Auch die Sterblichkeit der am Seeufer gefangenen und zur Zucht benutzten Glossinen war in den trockenen Monaten — namentlich im August und September — eine sehr hohe; infolgedessen war in diesen Monaten die Larvenablage gering, so daß in den folgenden Monaten die Zahl der geborenen Fliegen erheblich zurückging. Die Tabelle weist dementsprechend auch in den Monaten September bis November nur eine verhältnismäßig geringe Zahl im Versuch befindlicher Glossinen auf.

Verpuppung von Larven im Leibe der Glossinen.

Die von Roubaud und Bouffard[1] beobachtete Verpuppung der Larven im Leibe der trächtigen Glossinen haben jetzt auch wir in einer Reihe von Fällen gesehen. Die betreffenden Mutterfliegen waren jedesmal spontan eingegangen. Bei Fliegen, die wir zu Untersuchungszwecken töteten, wurde diese Beobachtung nicht gemacht.

[1] G. Martin-Leboeuf-Roubaud, *La Maladie du Sommeil au Congo Français.*

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. I.)

Die Figuren wurden unter Verwendung von Zeiss Apochromat 2^{mm}, Kompensationsokular 8 mit dem Zeichenapparat nach Abbé auf die Tischplatte entworfen. Nach Messung mit dem Objektmikrometer kam hierdurch eine Vergrößerung von etwa 1:1600 zustande.

Figg. 1—9. Trypanosoma pathogen für Rinder, Ziegen und Schafe. Nicht pathogen für Hunde und Affen.

Fig. 10. Ziegenblutkörperchen.

Fig. 11. Rinderblutkörperchen.

Figg. 12—19. Trypanosoma pathogen für Rinder, Schafe, Ziegen, Hunde und Affen.

Figg. 20—27. Großes dimorphes Trypanosoma pathogen für Rinder, Schafe, Ziegen, Hunde und Affen.

Fig. 28. Hundeblutkörperchen.



[Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin.]

Über die Desinfektionskraft komplexer organischer Quecksilberverbindungen.

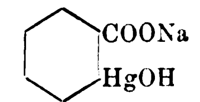
I. Aromatische Quecksilbercarbonsäuren.

II. Mitteilung.

Von

Dr. **Walter Schoeller** und Dr. **Walther Schrauth**.

Wie wir vor längerer Zeit mitgeteilt[1] haben, bietet das Natriumsalz der Oxyquecksilberbenzoesäure der Formel



für eine vergleichende Untersuchung über die Desinfektionskraft komplexer organischer Quecksilberverbindungen die geeignetste Grundlage, da hier in hohem Maße die Möglichkeit gegeben ist, zu prüfen, in welcher Weise der Eintritt neuer Gruppen in das Molekül die Desinfektionskraft der Verbindung verändert. Denn man kann, wie wir gezeigt haben, einmal die am Quecksilber haftende Oxygruppe unter Wahrung des Restmoleküls durch andere einwertige negative Gruppen oder Elemente ersetzen, und andererseits prüfen, welche Wirkung in den Benzolkern eingeführte Substituenten auslösen.

In unserer oben genannten ersten Mitteilung sind wir bereits zu dem Ergebnis gekommen, daß die dort festgestellten Unterschiede in der Desinfektionskraft der einzelnen Präparate veranlaßt werden durch die

[1] *Diese Zeitschrift.* 1910. Bd. LXVI. S. 497 ff.



verschiedene Affinität, mit der die einzelnen Reste an der zweiten, in der obigen Formel nicht organisch besetzten Valenz des Quecksilbers haften, und daß der Bakterie gegenüber als Desinfektionswirkung stets nur ein Restbetrag an chemischer Energie zum Ausdruck kommen kann, der dem Quecksilber in dem betreffenden Präparate verblieben ist, ein Faktor, den wir damals als „Restaffinität" bezeichnet haben. Dementsprechend kommt unter den dort geprüften Derivaten der mercurierten Benzoesäure auch dem oxyquecksilberbenzoesauren Natrium selbst der höchste Wirkungswert zu.

Die vorliegende Untersuchung soll nun zeigen, welchen Einfluß die Nebengruppierung im Benzolkern auf die Desinfektionskraft dieser Verbindung ausübt. Es haben uns hierbei die aus den folgenden Tabellen ersichtlichen Stoffe vorgelegen, die sämtlich unschwer zugänglich sind und über deren chemische Synthese wir, soweit dies nicht schon geschehen ist[1], später berichten werden. Geprüft wurde vornehmlich der Einfluß, welchen die Halogene (Chlor und Jod), die Methyl-, Oxy-, Methoxy- und Sulfogruppe, sowie der Amidorest und seine einerseits basischen, andererseits sauren Substitutionsprodukte beim Eintritt in den Benzolkern ausüben. Daran anschließend konnte sodann durch den Vergleich des Oxyquecksilberphenylglycinnatriums mit dem Natriumsalz der Oxyquecksilberphenylglycin-o-carbonsäure der Wirkungswert der Carboxylgruppe selbst gezeigt werden.

Die genannten Substituenten waren stets in die Orthostellung zur Carboxylgruppe eingeführt, so daß die geprüften Monosubstitutionsprodukte des oxyquecksilberbenzoesauren Natriums fast ausnahmslos die Konstitution

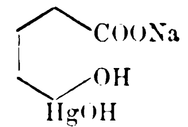
X
COONa
HgOH

(X das eingeführte Radikal)

besitzen.[2] Wir haben auf diesen Umstand besonderen Wert gelegt, da wir nur so die für unsere Zwecke notwendigen eindeutigen Vergleichswerte zu erhalten glaubten. Denn selbstverständlicherweise kann auch für die durch die einzelnen Substituenten bedingte Wirkung, deren Stellung im Benzolkern von Bedeutung sein. So zeigte sich z. B. ein wesentlicher

[1] Vgl. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft.* 1911. XLIV. S. 1300.

[2] Lediglich das Natriumsalz bei Oxyquecksilbersalicylsäure zeigt die hiervon abweichende Struktur



Unterschied in der Desinfektionskraft, wenn die Methoxygruppe einmal in die Para- und ein andermal in die Orthostellung zur Carboxylgruppe in das Molekül der Oxyquecksilberbenzoesäure eingeführt wurde, indem bei gleicher Konzentration (n/80) Staphylokokken



durch das Orthoderivat der Formel I bereits in 7 Minuten, durch das Paraderivat der Formel II aber erst in 25 Minuten abgetötet wurden (vgl. Tabelle III). Eine systematische Untersuchung isomerer Verbindungen beabsichtigen wir indessen zum Gegenstand einer besonderen Untersuchung zu machen.

Als Testobjekt haben wir wieder den Staphylococcus pyogenes aureus und zwar stets denselben Stamm benutzt, daneben aber diesmal auch die Desinfektionskraft der wichtigsten unserer Präparate an Milzbrandsporen geprüft. Auf Bakterien der Koligruppe ließ sich eine exaktere Prüfung leider nicht ausdehnen, da diese auch bei recht geringen Konzentrationen (n/800) vielfach innerhalb der ersten Einwirkungsminute abgetötet wurden.

Prüfungsmethode.

Um nach Möglichkeit Einflüsse der Entwicklungshemmung auszuschließen und so gleichzeitig Werte zu erhalten, welche den absoluten, die praktische Verwendbarkeit dieser Salze charakterisierenden Daten näher kommen, haben wir diesmal als Träger der Bakterien nicht, wie in unserer ersten Mitteilung, den Seidenfaden, sondern durch Flußsäure gerauhte und sorgfältigst gereinigte Glasperlen möglichst gleicher Größe verwandt.

Diese Perlen wurden mit einer filtrierten Bakterienemulsion (eintägige, bei 37° gezüchtete Kultur in 5 ccm sterilem Leitungswasser) imprägniert, im Exsikkator getrocknet und aufbewahrt. Für die einzelnen Versuche kamen stets frisch bereitete, gleichaltrige (1 bis 2 tägige) Perlen zur Verwendung. Zur Entfernung der Desinfizientien haben wir dieselben nach deren Einwirkung stets in gleicher Weise auf das gründlichste mit sterilem Wasser gewaschen und alsdann längere Zeit mit 1 bis 2 ccm sterilem Wasser geschüttelt. Die dadurch erzielte Suspension der von den Perlen losgelösten Bakterien wurde sodann zu Agarplatten gegossen, da nach einigen Vorversuchen das Wachstum auf Agar ein sichereres Resultat ergab, als dasjenige in Bouillon.

Zu dieser Abänderung der in unserer ersten Mitteilung verwandten Methodik sahen wir uns veranlaßt, weil die entwicklungshemmende Wirkung unserer Präparate vielfach eine über Erwarten große ist. In der



folgenden Tabelle haben wir die für drei derselben charakteristischen Daten zusammengestellt, aus denen sich ohne weiteres ergibt, daß sie das Sublimat in dieser Beziehung erheblich übertreffen. Für die Versuche selbst versetzten wir je 2 ccm Bouillon mit abfallenden Mengen der zu prüfenden Desinfizientien, füllten sämtliche Röhrchen mit Bouillon auf 4 ccm auf und gaben zu jedem 2 Tropfen einer 24stündigen Bouillon- bzw. Agarkulturemulsion von Staphylokokken- bzw. Milzbrandsporen. Nach 24 bis 48stündigem Stehen im Brutschrank war sodann an der eventuell entstandenen Trübung die jeweilige Wirkungsgrenze der einzelnen Desinfizientien zu erkennen.

Tabelle I.
Entwicklungshemmung in Bouillon.

a) **Staphylococcus pyogenes aureus.**

Hg-Konzentration	Sublimat	Oxyquecksilber-benzoesaures Natrium	Oxyquecksilber-o-toluylsaures Natrium	Oxyquecksilber-o-chlorbenzoesaures Natrium
1 : 25 000	—	—	—	—
1 : 50 000	—	—	—	—
1 : 75 000	+	—	—	—
1 : 100 000	++	—	—	—
1 : 200 000	++	++	—	—

b) **Bacillus anthracis.**

Hg-Konzentration	Sublimat	Oxyquecksilber-benzoesaures Natrium	Oxyquecksilber-o-toluylsaures Natrium	Oxyquecksilber-o-chlorbenzoesaures Natrium
1 : 50 000	—	—	—	—
1 : 100 000	—	—	—	—
1 : 500 000	—	—	—	—
1 : 1 000 000	—	—	—	—
1 : 1 500 000	++	—	—	—
1 : 2 000 000	++	—	—	—

Da nun bei der früher von uns benutzten Seidenfadenmethode, wie wir schon damals betont haben, selbstverständlicherweise durch „Anfärbung“ der Fäden geringe Mengen der Desinfizientien mit in die Nährböden übertragen werden, kann diese Methode, wie wir auch hier noch einmal ausdrücklich hervorheben möchten, lediglich relative Werte ergeben, die sich als solche aber doch vergleichen lassen, solange die verwandten Desinfizientien ihrer Konstitution nach einander ähnlich sind. In der Tat konnten wir unsere bisher publizierten Ergebnisse bei einer Nachprüfung unter Benutzung der in dieser Arbeit verwandten Methodik durchaus bestätigen und, wie aus den folgenden Angaben zu ersehen ist, die dort bekannt gegebenen Beziehungen auch an Derivaten anderer merkurierter Carbonsäuren nachweisen. So tötet bei Verwendung der oben beschriebenen Methodik z. B. das oxyquecksilber-o-toluylsaure Natrium der Formel

$HOHg \cdot C_6H_3(CH_3)COONa$ Staphylokokken in 7 Minuten ab, während dieselben Keime durch das chlorquecksilber-o-toluylsaure Natrium der Formel $ClHg \cdot C_6H_3(CH_3)COONa$ ebenso wie durch das Doppelsalz des oxyquecksilber-o-toluylsauren Natriums mit Amidooxyisobuttersäure der Formel

$$Hg\left\langle\begin{matrix}OH \\ C_6H_3(CH_3)COONa\end{matrix}\right. \cdot \left.\begin{matrix}NH_2CH_2 \\ CH_3\end{matrix}\right\rangle COH \cdot COOH$$

erst in 20 bis 25 Minuten, durch das quecksilberdi-o-toluylsaure Natrium der Formel $Hg[C_6H_3(CH_3)COONa]_2$ aber nicht in 5 Stunden vernichtet werden.

Ein Vergleich der jeweiligen Wirkungsstärke mit derjenigen des Sublimats führt bei einer Prüfung nach der Seidenfadenmethode jedoch zu falschen Folgerungen, vielleicht weil die hier geprüften Substanzen in Analogie mit den organischen Farbstoffen als „molekular wirkende Desinfizientien" den Seidenfaden in größerem Maße anfärben, als das vornehmlich ional wirkende Sublimat. In der folgenden Tabelle sind die Wirkungswerte zweier unserer Präparate denjenigen gegenübergestellt, die wir bei Anwendung von Sublimat erhielten, und zwar wurden die Versuche einmal nach der Seidenfadenmethode mit n/160 Lösungen und einmal nach der oben beschriebenen Methodik mit n/80 Lösungen durchgeführt. Aus der Zusammenstellung ist ersichtlich, daß in beiden Fällen das Verhältnis in der Wirkung des oxyquecksilberbenzoesauren Natriums und oxyquecksilber-o-toluylsauren Natriums das gleiche ist, daß aber ein Vergleich mit äquimolekularen Sublimatlösungen in beiden Fällen zu anderen Resultaten führt.

Tabelle II.

Staphylokokken werden abgetötet unter Benutzung der			
Seidenfadenmethode		**Glasperlenmethode**	
durch	in	durch	in
n/160 Sublimat	8′	n/80 Sublimat	7′
n/160 Oxyquecksilberbenzoesaures Na	2′	n/80 Oxyquecksilberbenzoesaures Natrium	25—30′
n/160 Oxyquecksilber-o-toluylsaures Natrium	1/2′	n/80 Oxyquecksilber-o-toluylsaures Natrium	7′

Prüfungsergebnisse.

Zum Verständnis der nachfolgenden Tabellen sei erwähnt, daß die jeweilig verglichenen Lösungen wiederum gleiche Normalität (n/80) besaßen. + + + bedeutet sehr starkes Wachstum (über 100 Col), + + starkes Wachstum (30 bis 100 Col), + Wachstum (10 bis 30 Col), — kein Wachstum (eventuell bei Zahlenangabe 1 bis 10 Col).

Tabelle III.

Normalität 1/80. 100 ccm enthalten 0·25 grm Hg.

	1'	3'	5'	7'	10'	12'	15'	20'	25'	30'	45'	60'	90'	2h	3h	4h
1. Sublimat. $HgCl_2$	+++	++	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
2. Oxyquecksilberbenzoesaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_4 \cdot COONa$			+++	+++	+++	++	++	+(30)	–(6)	–	–	–	–	–	–	–
3. Oxyquecksilber-o-chlorbenzoesaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_3Cl \cdot COONa$	–(1)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4. Oxyquecksilber-o-jodbenzoesaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_3J \cdot COONa$			++		++		++	–	–	–	–	–	–	–	–	–
5. Oxyquecksilber-o-toluylsaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_3(CH_3) \cdot COONa$	+++	+++	++	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
6. Oxyquecksilber-o-methoxybenzoesaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_3(OCH_3) \cdot COONa$	+++	++	++	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
7. Oxyquecksilber-p-methoxybenzoesaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_3(OCH_3) \cdot COONa$			+++		++		++	+	–	–	–	–	–	–	–	–
8. Oxyquecksilbersalicylsaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_3(OH) \cdot COONa$												+++	+++	++	++	–
9. Oxyquecksilber-o-kresotinsaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_2 \cdot (CH_3)(OH) \cdot COONa$ 1:2:3.										+++		+++	++	++	–	–
10. Oxyquecksilbersulfosalicylsaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_2 \cdot (SO_3H)(OH) \cdot COONa$												+++	+++	++	++	++(80)

Die in der vorstehenden Tabelle dargelegten Versuchsergebnisse zeigen zunächst, daß der Eintritt der Halogene (Chlor und Jod) in den Benzolkern ebenso wie die Substitution von Benzolkernwasserstoffen durch die Methyl- oder Methoxygruppe die Desinfektionskraft erheblich steigert. Dieser Befund steht durchaus in Übereinstimmung mit den bisherigen Erfahrungen, die man vornehmlich bei den Phenolen gemacht hat, deren antiseptische Wirkung zunimmt, wenn Kernwasserstoffe durch Methylgruppen oder Halogen ersetzt werden.[1] Eine erhebliche Desinfektionskraft besitzt vor allem das Natriumsalz der Oxyquecksilber-o-chlorbenzoesäure (Nr. 3), das nach diesen Versuchen auch dem Sublimat an Wirkung überlegen ist. Die Natriumsalze der Oxyquecksilber-o-toluylsäure (Nr. 5)[2] und Oxyquecksilber-o-methoxybenzoesäure (Nr. 6) sind diesem sodann durchaus gleichwertig, während ihm die Salze der Oxyquecksilber-o-jod- (Nr. 4) und p-Methoxybenzoesäure (Nr. 7) an Wirkung nachstehen, aber die Grundsubstanz der ganzen Reihe, das Natriumsalz der Oxyquecksilberbenzoesäure (Nr. 2) immerhin noch übertreffen. Ferner macht sich der günstige Einfluß der Methylgruppe auch bemerkbar bei einer Gegenüberstellung der Wirkungswerte, die wir für die Natriumsalze der Oxyquecksilbersalicylsäure (Nr. 8) und der Oxyquecksilber-o-kresotinsäure (Nr. 9) gefunden haben.

Im Gegensatz hierzu schwächt nun ebenfalls in Übereinstimmung mit den bisherigen Erfahrungen der Eintritt saurer salzbildender Gruppen die Desinfektionswirkung erheblich ab. Wie aus derselben Tabelle III zu ersehen ist, ist das Natriumsalz der Oxyquecksilbersalicylsäure (Nr. 8) um vieles schwächer als die entsprechende Benzoesäureverbindung (Nr. 2), aber ihrerseits doch wieder wirksamer als die Oxyquecksilbersulfosalicylsäure (Nr. 10), deren Wirkungswert durch den bekannterweise stark entgiftenden Einfluß der Sulfogruppe weiter erheblich herabgesetzt ist. Die Oxyquecksilber-o-kresotinsäure (Nr. 9) ist in Form ihres Natriumsalzes ebenfalls bedeutend weniger wirksam als das entsprechende Derivat der o-Toluylsäure (Nr. 5), so daß auch hier der retardierende Einfluß der sauren Phenolgruppe in Erscheinung tritt.

In ähnlicher Weise wie die Phenol(OH)gruppe schwächt auch der Eintritt des Amidorestes in den Benzolkern des oxyquecksilberbenzoesauren Natriums dessen Desinfektionswirkung erheblich ab, aber der Wirkungswert der Oxyquecksilberanthranilsäure ist durch eine einerseits

[1] Vgl. H. Bechhold u. P. Ehrlich, Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Desinfektionswirkung. *Zeitschrift für physiologische Chemie.* 1906. Bd. XLVII. S. 173 ff.

[2] Die Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co. verwenden dieses Salz unter dem Namen Afridol für die Herstellung antiseptischer Quecksilberseifen.



Tabelle IV.

Normalität $^1/_{80}$. 100 ccm enthalten 0·25 grm Hg.

	5′	10′	15′	20′	25′	30′	45′	60′	90′	2h	2½h	3h	4h	5h
1. Oxyquecksilberbenzoesaures Natrium **HOHg·C_6H_4·COONa**	+++	++	++	+(30)	−(6)	−	−	−	−	−	−	−	−	−
2. Oxyquecksilberanthranilsaures Natrium HOHg·C_6H_3·NH_2·COONa								+++	+++	+++	++	−(12)	−	−
3. Oxyquecksilber-monomethylanthranilsaures Natrium HOHg·C_6H_3·$NHCH_3$·COONa						++	++	−	−	−	−	−	−	−
4. Oxyquecksilber-dimethylanthranilsaures Na HOHg·C_6H_3·$N(CH_3)_2$·COONa	+++	++	++	++	−(7)	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5. Oxyquecksilber-phenylglycin-o-carbonsaures Na, HOHg·C_6H_3·$NHCH_2COONa$·COONa								+++	+++	+++	+++	++	+	+
6. Oxyquecksilber-phenylglycinnatrium HOHg·C_6H_4·NH·CH_2·COONa								+++	++	−(5)	−	−	−	−
7. Oxyquecksilber-o-toluidoessigsaures Na HOHg·$C_6H_3(CH_3)$·NH·CH_2·COONa	+++	+++	+++	++	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
8. Dioxyquecksilber-α-anilidobuttersaures Na $(HOHg)_2C_6H_3NHCH(C_2H_5)$·COONa	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	−	−	−	−	−	−	−

Tabelle V.

Normalität $^1/_{80} \cdot 100^{ccm}$ enthalten $0 \cdot 25^{grm}$ Hg. — Testobjekt Milzbrandsporen.

	1′	3′	5′	7′	10′	12′	15′	20′	25′	30′	45′	60′	90′	2^h	$2^1/_2{}^h$	3^h	4^h	5^h
1. Oxyquecksilberbenzoesaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_4 \cdot COONa$					+++		+++	+++		+++	+++	++	++	–	–	–	–	–
2. Oxyquecksilber-o-chlorbenzoesaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_3Cl \cdot COONa$	++	++	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
3. Oxyquecksilber-o-toluylsaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_3(CH_3) \cdot COONa$			+++	+++	+++		++	++	+(25)	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4. Oxyquecksilber-o-methoxybenzoesaures Na $HOHg \cdot C_6H_3(OCH_3)COONa$			+++	+++	+++		++	++	+(13)	–	–	–	–	–	–	–	–	–
5. Oxyquecksilbersalicylsaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_3(OH)COONa$														+++		+++	++	+
6. Oxyquecksilberanthranilsaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_3(NH_2)COONa$												+++	+++	+++	++	–(1)	–	–
7. Oxyquecksilberdimethylanthranilsaures Natrium $HOHg \cdot C_6H_3 \cdot N(CH_3)_2 \cdot COONa$			+++		+++		++	++	+(36)	+(16)	–	–	–	–	–	–	–	–

basische, andererseits saure Substitution in der Amidogruppe in hohem Maße variabel. Während die Anthranilsäureverbindung (Tabelle IV, Nr. 2) trotz $2\frac{1}{2}$ Stunden langer Einwirkung ein Wachstum der Staphylokokken nicht verhindern kann, ist eine Abtötung derselben mit dem Natriumsalz der Oxyquecksilber-monomethylanthranilsäure (Nr. 3) bereits in etwa 60 Minuten und dem Natriumsalz der Oxyquecksilber-dimethylanthranilsäure (Nr. 4) sogar schon in 5 Minuten möglich. Im entgegengesetzten Sinne wirkt jedoch eine Substitution in der Amidogruppe durch saure Reste. Das Natriumsalz der Oxyquecksilber-phenylglycin-o-carbonsäure (Nr. 5) vermag selbst in 5 stündiger Einwirkung Staphylokokken nicht völlig abzutöten.

Wie wir schon oben erwähnten, haben wir sodann geprüft, ob in diesem Präparat (Nr. 5) durch Fortfall der Kerncarboxylgruppe die Desinfektionskraft wiederum eine Steigerung erfährt. Wie aus Tabelle IV ersichtlich ist, tritt die erwartete Wirkung in der Tat ein, indem das Oxyquecksilber-phenylglycinnatrium (Nr. 6) Staphylokokken bereits nach 2 stündiger Einwirkung vernichtet. In derselben Tabelle IV zeigt sodann die Wirkung des oxyquecksilber-o-toluidoessigsauren Natriums (Nr. 7) noch einmal den günstigen Einfluß, der durch den Eintritt der Methylgruppe in den Benzolkern bedingt wird, und ferner tritt sehr deutlich in Erscheinung, daß auch der Eintritt einer zweiten Oxyquecksilbergruppe in den Benzolkern (Dioxyquecksilber-α-anilidobuttersaures Natrium Nr. 8) die Desinfektionskraft, wie zu erwarten war, erheblich steigert.

In der Tabelle V (s. S. 32) sind die Ergebnisse zusammengestellt, welche die Prüfung der wichtigsten dieser Präparate an Milzbrandsporen ergeben hat. Auch hier wurde ein analoges Resultat in bezug auf den Einfluß der einzelnen Substituenten erhalten, nur ist dem Charakter der angewandten Sporen entsprechend für deren Abtötung jeweils längere Zeit nötig, als für die Vernichtung der Staphylokokken.

Auf Grund der hier besprochenen Tatsachen scheint uns die Möglichkeit gegeben, durch geeignete Kombination der die Desinfektionskraft steigernden Kernsubstituenten organische Quecksilberpräparate darzustellen, welche auch den besten der hier besprochenen Stoffe an Wirkung noch überlegen sein können. Wir behalten uns vor, in einer dritten Mitteilung die Ergebnisse diesbezüglicher Untersuchungen bekannt zu geben.

Zum Schluß dieser Arbeit möchten wir uns erlauben, Herrn Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Flügge für das uns während der Ausführung dieser Untersuchungen stets bewiesene Wohlwollen unseren ergebensten und aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Bei der experimentellen Durchführung dieser Versuche sind wir von Herrn Dr. E. Hairi bey auf das eifrigste unterstützt worden, wofür wir ihm auch an dieser Stelle unsern besten Dank sagen.



Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit wurde ausgehend vom oxyquecksilberbenzoesauren Natrium untersucht, wie die Einführung verschiedenartiger Substituenten in die Orthostellung zur Carboxylgruppe die Desinfektionskraft beeinflußt.

Die Versuche wurden in der Hauptsache an Staphylokokken ausgeführt und zum Teil auf Milzbrandsporen ausgedehnt.

Hierbei zeigte sich:

1. Die Einführung von Halogen (Chlor und Jod), Methyl- und Methoxygruppen in den Benzolkern des oxyquecksilberbenzoesauren Natriums steigert die Desinfektionskraft erheblich.

2. Der Eintritt der sauren salzbildenden Phenol(OH)- und Sulfo(SO_3H)-gruppe in den Benzolkern schwächt die Desinfektionskraft des oxyquecksilberbenzoesauren Natriums.

3. In ähnlicher Weise vermindert auch der Eintritt des Amidorestes in den Kern die bakterizide Wirkung. Durch eine Alkylsubstitution in der Amidogruppe wird jedoch entsprechend der Anzahl der eingeführten Alkylgruppen die Desinfektionskraft wieder gesteigert. Eine saure Substitution in der Amidogruppe setzt dagegen die Desinfektionskraft der Oxyquecksilberamidobenzoesäure (Anthranilsäure) weiter erheblich herab. Durch Eliminierung der Kerncarboxylgruppe aus dem Molekül des oxyquecksilberphenylglycin-o-carbonsauren Natriums erfährt die Desinfektionskraft der Verbindung aber wiederum eine Erhöhung (s. 2.)

4. Der Eintritt einer zweiten Oxyquecksilbergruppe in den Benzolkern steigert, wie zu erwarten ist, die Desinfektionskraft.



[Aus dem Untersuchungsamt der Stadt Berlin.]
(Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Proskauer.)
[Hygienisch-bakteriologische Abteilung.]
(Vorsteher: Prof. Dr. Sobernheim.)

Die Bekämpfung der Diphtherie in Schulen und geschlossenen Anstalten.

Von

Dr. E. Seligmann.

Über die Bekämpfung der epidemischen Diphtherie liegen bis heute mehr theoretische Vorschläge vor als Berichte über die durchgeführte Bekämpfung. Die Arbeiten von Löffler[1], C. Fraenkel[2], Kolle[3] u. a. haben uns brauchbare Waffen geschmiedet, die Erkenntnis von der Bedeutung der Bazillenträger hat uns neue Möglichkeiten eröffnet; durch die Arbeiten von Kober[4], Scheller[5], v. Drigalski[6] u. v. a. wissen wir, daß die Theoreme der Wissenschaft sich auch hier erfolgreich in die epidemiologische Praxis umsetzen lassen, und in neuerer Zeit erst mehren sich die so wichtigen kasuistischen Beiträge über die praktische Bekämpfung von Epidemien; es sei auf die Arbeiten von Otto[7], Wolff[8], Lemke[8], Lippmann[9], Jacobstal[10], Macdonald[11], Lesieur[12] u. a.

[1] *Verhandlungen des X. intern. Kongresses.* Berlin 1890.
[2] *Deutsche Vierteljahrsschrift für öffentl. Gesundheitspflege.* 1897. Bd. XXIX.
[3] *Diese Zeitschrift.* 1895. Bd. XIX.
[4] *Ebenda.* 1899. Bd. XXXI.
[5] *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen* von Kolle und Wassermann.
[6] *Verh. d. fr. Vereinigung f. Mikrobiologie.* 1908. — Ref.: *Centralblatt für Bakteriologie.*
[7] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1910. Nr. 24.
[8] *Vierteljahrsschrift f. gerichtl. Medizin usw.* 1911. III. Folge. Bd. XLI. Hft. 2.
[9] *Diese Zeitschrift.* 1910. Bd. LXVII.
[10] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1911. Nr. 1.
[11] *Lancet.* 1911. Nr. XII.
[12] *Annales d'hygiène publique et de médecine légale.* No. de Décembre 1910.



verwiesen. Diesen Forschern, die methodisch die Forderungen der theoretischen Seuchenlehre am konkreten Fall erprobt haben und zumeist von rühmlichen Erfolgen berichten können, stehen andere skeptische gegenüber (so in letzter Zeit Sörensen[1] und Garret[2]), die den Wert der bakteriologischen Kontrolluntersuchungen in vieler Hinsicht als illusorisch betrachten. An ihrer Seite findet man — das haben uns unsere Erfahrungen leider zur Genüge gelehrt — einen großen Teil der praktischen Ärzte, auch solche, die in hygienisch verantwortungsvoller Stellung sich befinden (Schulärzte u. a.).

Zur Aufklärung dieser noch recht ausgedehnten Kreise von Ungläubigen ist daher jeder kasuistische Beitrag willkommen zu heißen, der überzeugend dartun kann, daß die Forderungen der Theorie, die ja aus der Praxis geboren sind, von segensreichster Wirkung für die Praxis sein müssen.

Das Berliner Städtische Untersuchungsamt verfügt über ein ziemlich umfangreiches und recht interessantes Material, dessen praktische und theoretische Durcharbeitung in den letzten 3 Jahren vorwiegend mir zugefallen ist. Unsere Erfahrungen betreffen hauptsächlich die Bekämpfung der Diphtherie in Schulen und in Säuglings- bzw. Kinderanstalten städtischen Betriebes und haben sowohl die akuten Epidemien wie die eingenisteten, sich über Monate und Jahre hinschleppenden Hausepidemien zum Gegenstand.

Die bakteriologisch und epidemiologisch sichergestellten Tatsachen, die uns zur Grundlage aller Bekämpfungsmaßnahmen geworden sind, waren die bekannten: der Erreger der Diphtherie ist der von Löffler entdeckte Diphtheriebacillus; die Übertragung erfolgt im allgemeinen von Person zu Person durch Hustentröpfchen, Küsse usw. Wenn sich der Erreger auch eine Zeitlang in den Wohnungen und Kleidern der Infizierten halten kann, so ist doch die Weiterverbreitung von Mensch zu Mensch ungleich wichtiger. Bedeutungsvoll und für die Epidemiologie der Diphtherie geradezu grundlegend ist ferner das Vorkommen gesunder Bazillenträger.

Nicht jede Infektion mit Diphtheriebazillen führt notwendigerweise zur Erkrankung, es ist vielmehr, wie auch bei anderen Infektionskrankheiten, nicht selten, daß Personen aus der Umgebung der Erkrankten den Infektionsstoff aufnehmen, ihn in ihrem Körper beherbergen, ohne selbst zu erkranken. Diese „Bazillenträger", die meist gar nicht wissen, in welcher Gefahr sie schweben, bzw. welche Gefahr von ihnen ausgehen

[1] *Münchener med. Wochenschrift.* 1911.
[2] Nach Referat in: *Zeitschrift für Medizinalbeamte.* 1911. Bd. XXIV. Nr. 13.

kann, sind die Hauptverbreiter der Infektion. Die scheinbar gesunden Personen stecken immer neue Personen an und streuen den Infektionsstoff weiter aus, der oft genug dann auf fruchtbareren Boden fällt. Warum die einen erkranken, die anderen zu Bazillenträgern werden, ist noch nicht völlig aufgehellt. Hinweise darauf werde ich aus unseren Krankenhauserfahrungen geben; mit der wechselnden Virulenz der Bazillen besteht jedenfalls kein Zusammenhang, es scheint vielmehr, als ob die momentane Widerstandsfähigkeit des Betroffenen gegen Infektionen von entscheidendem Einfluß ist. Andererseits können Personen, die an Diphtherie erkrankt waren, noch längere Zeit Diphtheriebazillen in ihrem Rachen beherbergen. Diese „Dauerausscheider" sind natürlich genau so gefährlich wie die gesunden Bazillenträger. Und epidemiologisch noch gefährlicher sind wohl jene ganz leicht verlaufenden Fälle, die wegen der minimalen Symptome gar nicht den klinischen Verdacht der Diphtherie erwecken und dadurch nur um so leichter zur Quelle von Neuinfektionen werden können.

Jedenfalls ergibt sich schon aus diesen allgemeinen Bemerkungen, wo eine zielbewußte Diphtheriebekämpfung einzusetzen hat. Wer die Infektionsquellen verstopfen will, darf nicht nur die Erkrankten isolieren, sondern muß auch die Unschädlichmachung aller Bazillenträger sofort in Angriff nehmen.

A. Schulepidemien.

I. Wie groß die Verbreitung der Bazillenträger sein kann, möge eine unserer ersten Gemeindeschuluntersuchungen illustrieren:[1]

In einer Klasse erkrankt ein Knabe an Diphtherie, kurz darauf ein anderer Knabe. Einer von diesen hatte im Klassenzimmer Erbrechen. Der Schularzt, Hr. Dr. Seydel, der übrigens diesen Fall schon veröffentlicht hat[2], veranlaßte Schließung und Desinfektion der Klasse: weniger wegen der Zahl der Erkrankungen, als weil er fürchtete, daß eine Infektion des Klassenzimmers durch das Erbrechen stattgefunden haben könnte. Er setzte sich daraufhin sofort mit uns in Verbindung und veranlaßte eine bakteriologische Untersuchung sämtlicher Kinder der Klasse. Das Resultat war ein verblüffendes: Von 46 Kindern beherbergten 33 Diphtheriebazillen. Die Kinder wurden nach Hause geschickt und angewiesen, häufige Mundspülungen vorzunehmen; die bakteriologische

[1] Die bakteriologischen Untersuchungen haben in diesem Falle die Kollegen Dr. Ditthorn und Dr. Luerssen vorgenommen.

[2] *Zeitschrift für Schulgesundheitspflege.* 1909. Bd. XXII.



Kontrolle wurde aufrecht erhalten, sie ergab bei der zweiten Untersuchung nach 8 Tagen noch 10 Bazillenträger. Jetzt wurde der Unterricht wieder aufgenommen, zugelassen wurden aber nur die Kinder, die bakteriologisch sich als bazillenfrei erwiesen hatten. Die 10 Bazillenträger wurden weiter unter Aufsicht gehalten und konnten nach etwa 14 Tagen sämtlich wieder am Unterricht teilnehmen. Ob die große Zahl der gefundenen Bazillenträger, wie Seydel meint, wirklich nur so zu erklären ist, daß durch das Erbrechen der Fußboden infiziert wurde, und daß das Aufwirbeln des Bodenstaubes die Bazillen in großer Zahl mit emporgerissen hat, kann zweifelhaft erscheinen. Jedenfalls ließen sich noch nach der Zimmerdesinfektion in den Fußbodenritzen Diphtheriebazillen bakteriologisch nachweisen; selbst nach einer zweiten Desinfektion waren die Bazillen noch lebensfähig geblieben; erst als das Zimmer 8 Tage geschlossen blieb und ständig durchlüftet wurde, konnten Diphtheriebazillen nicht mehr gefunden werden. Dieser Vorfall zeigt so auch, daß die Desinfektion nicht immer ein zuverlässiges Mittel in der Diphtheriebekämpfung darstellt, jedenfalls sollte sie nicht nur als alleiniges Mittel neben dem Schulschluß angewendet werden, wie es leider noch recht häufig geschieht.

In unserem Falle war es dem Eingreifen von Arzt und Bakteriologen gelungen, den Ausbruch einer größeren Epidemie zu verhüten, gewiß die ideale Methode der Seuchenbekämpfung. Ein zweiter Fall zeigt, wie auch nach beendeter Epidemie die bakteriologische Untersuchung noch segensreich wirken und Neuerkrankungen verhindern kann.

II. In einer anderen Berliner Gemeindeschule war eine kleinere Diphtherieepidemie in einer Mädchenklasse entstanden, die in üblicher Weise durch Schulschluß und Klassendesinfektion bekämpft worden war. Es waren in den voraufgegangenen 5 Wochen acht Kinder an Halsentzündung erkrankt, bei vier von diesen war Diphtherie bakteriologisch festgestellt worden. Nach Wiedereröffnung der Klasse beantragte der Schularzt, Hr. Dr. R. Schultz, eine bakteriologische Untersuchung aller Kinder, hauptsächlich aus dem Grunde, weil die Schule in ein neues Gebäude übersiedeln sollte, und er, wie er sagte, keinen Infektionsstoff mit hinübernehmen wollte. Wie berechtigt sein Verdacht war, ergab die Untersuchung: Von 51 Kindern beherbergten 9 Diphtheriebazillen in ihrem Rachen, ohne selbst krank gewesen zu sein. Auch hier also war eine merkliche Ausstreuung des Infektionsstoffes erfolgt. Die betreffenden Kinder wurden vom Schulbesuch ausgeschlossen, mit entsprechenden Anweisungen an die Eltern versehen und nicht eher wieder zugelassen, als bis sie durch dreifach wiederholte bakteriologische Kontrolle als sicher bazillenfrei sich erwiesen hatten. Der Erfolg gab unserem Vorgehen

recht; Neuerkrankungen kamen nicht vor; eine Infektion des neuen Schulhauses war vermieden worden.

Die Untersuchungen der Klassenschülerinnen wurden in Zwischenräumen von etwa 4 Tagen wiederholt, anstatt daß man, wie sonst üblich, 5 Tage gewartet hätte. Das war in diesem Falle wegen der bevorstehenden Schulferien geboten, wird sich aber auch sonst in Schulen empfehlen, um die Untersuchung zu beschleunigen und das Fehlen der Kinder möglichst abzukürzen. Das Verhalten der als Bazillenträger erkannten Schülerinnen ergibt folgende kleine Tabelle:

Name	Untersuchungsresultate	Bemerkungen
Fr.	— + — + + — — —	
J. K.	— + — + — + + — — —	
H. M.	— + — — —	
G. P.	— + — — —	hat vor 4 Wochen wegen Diphtherie gefehlt.
F. G.	+ — — — —	
R. W.	+ — — —	
W. P.	— — + + — + — — —	
E. B.	+ + + + + + — — —	
M. S.	— — + — — —	

Bemerkenswert ist, daß eine ganze Reihe von Kindern erst bei der zweiten, zwei sogar erst bei der dritten Untersuchung als infiziert erkannt wurden. Das liegt wohl nicht nur an den Mängeln der bakteriologischen Technik, dem Überwuchern anderer Bakterien, sondern gewiß auch an der mehr oder minder wechselnden Art der Entnahme, da ja kaum anzunehmen ist, daß die Bazillen bei diesen gesunden Individuen gleichmäßig über den ganzen Mandelrachenraum verteilt sind; sie sind oft nur spärlich vorhanden, sitzen nicht selten in den schwerer zugänglichen Lakunen und Krypten der Mandeln und entgehen so manchmal der Entnahme. Beide Momente vereinigen sich und stützen so die Forderung, sich nicht mit einer einzelnen Untersuchung zu begnügen, sondern möglichst eine dreimalige Ausführung zu verlangen.

Beachtenswert und schultechnisch bedeutungsvoll ist ferner, wie lange einzelne Kinder die Bazillen beherbergen; so dauerte es bei J. K. 43 und bei E. B. 42 Tage, bis sie wieder als schulfähig erklärt werden konnten.

III. Eine dritte Schuluntersuchung schließlich führte uns mitten hinein in den Kampf mit der wütenden Seuche:

Im Dezember des Jahres 1910 wurde das Untersuchungsamt mit der Bekämpfung der Diphtherieepidemie in einer Klasse einer nördlichen

Berliner Gemeindeschule betraut. Noch am gleichen und am folgenden Tage fanden Konferenzen mit dem Rektor der Schule und dem Schularzt, Hrn. Dr. Bernhard, statt. Hier erfuhren wir, daß die Schulklasse bereits vom 23. bis 30. November geschlossen worden war, weil kurz vorher acht Schulkinder an Diphtherie bzw. Halsentzündung erkrankt waren. Der Schulschluß hatte jedoch nicht den gewünschten Erfolg, da in der Zwischenzeit weitere vier Kinder erkrankten, denen sich nach Schulbeginn drei neue Krankheitsfälle anschlossen. Man stand daher vor der Frage eines erneuten Schulschlusses. Hiervon rieten wir vorläufig ab und verabredeten statt dessen mit dem Schularzt und dem Rektor folgenden Bekämpfungsplan:

Sämtliche noch anwesenden Schülerinnen und die Lehrerin werden bakteriologisch untersucht. Die Untersuchung, die festzustellen hat, ob gesunde Bazillenträger vorhanden sind, die den Infektionsstoff weitertragen können, muß dreimal in gewissen Zwischenräumen wiederholt werden. Sollte die Zahl der Bazillenträger sehr groß sein, so wird aus Zweckmäßigkeitsgründen die Klasse geschlossen; ist deren Zahl jedoch nicht sehr erheblich, so werden die betreffenden Kinder vom Schulbesuch ausgeschlossen und nicht eher wieder zugelassen, als bis sie nach dreimaliger bakteriologischer Untersuchung sich als bazillenfrei erwiesen haben. Ebenso soll von den zurzeit fehlenden Schulkindern keins früher am Schulbesuch teilnehmen, als bis auch hier die bakteriologische Untersuchung dreimal negativen Befund erhoben hat.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen stellt sich, wie folgt dar:

Von 31 anwesenden Personen (Lehrerin und 30 Kinder) erwiesen sich fünf als Bazillenträger. Diese Kinder wurden vom Schulbesuch ausgeschlossen und mit schriftlicher Anweisung über ihr weiteres Verhalten versehen. Von den bei den ersten Untersuchungen fehlenden Kindern erwiesen sich zwei, als sie die Schule wieder besuchen wollten, als infektionsfähig. Hierzu kommt noch eine Schülerin, die nach der zweiten Untersuchung erkrankte und beim versuchten Wiedereintritt als Bazillenträgerin erkannt wurde. Im ganzen fanden sich also 8 Bazillenträger unter 43 Personen.[1] Im Fußbodenstaub, der gleichfalls mehrfach bakteriologisch untersucht wurde, konnten Diphtheriebazillen nicht nachgewiesen werden.

Das Vorhandensein dieser recht erheblichen Menge von Bazillenträgern genügt völlig zur Erklärung der vorliegenden epidemiologischen Besonderheiten, speziell zur Erklärung, warum trotz Schulschlusses die Seuche nicht erloschen war. Mit Schulöffnung

[1] Zu den 31 anwesenden kamen noch 12 zuerst fehlende Kinder.



kamen die Infektionsquellen, eben die scheinbar gesunden Bazillenträger, wieder mit den anderen Kindern zusammen und verbreiteten die Krankheit aufs neue. Daß unter solchen Umständen auch die Desinfektion der Klassenräume erfolglos bleiben muß, ist einleuchtend. Ebenso klar ist ferner, daß durch das unkontrollierte Eintreten der Kinder, die wegen Halsentzündung bzw. Diphtherie gefehlt hatten, leicht eine neue Epidemie hätte ausgelöst werden können.

Auch der praktische Erfolg hat die Richtigkeit der getroffenen Maßnahmen erwiesen. Unmittelbar nach dem Beginn der Untersuchungen erkrankten noch zwei Kinder, eines davon an bakteriologisch sichergestellter Diphtherie, während weitere Neuerkrankungen seitdem nicht mehr vorgekommen sind, so daß in der Tat mit der strengen Durchführung der angeordneten Maßnahmen die Epidemie zum Erlöschen gebracht wurde.

Das bakteriologische Verhalten der Bazillenträger illustriert wieder die folgende Tabelle:

Name	Untersuchungsresultate	Bemerkungen
H. G.	+ + + + — — —	hat vor 3 Wochen wegen Diphtherie gefehlt.
F. M.	+ — + — — —	
C. S.	+ — — —	
V. S.	— — ...... + — — —	erkrankt nach der zweiten Untersuchung an „Halsentzündung“.
E. W.	— + + + — —	
H. W.	— — + + — + — — —	
J. P.	...... — — + — —	fehlte bei der ersten Untersuchung wegen Diphtherie.
G. K.	...... + — — —	Schwester hat Diphtherie gehabt.

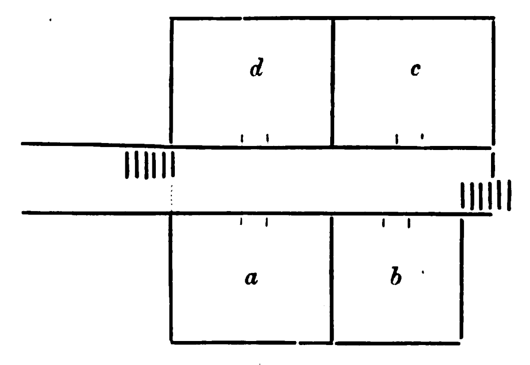
Auch in diesem Falle, wie im vorigen, sind Kinder Bazillenträger geblieben, die einige Wochen vorher Diphtherie bzw. „Halsentzündung“ gehabt haben. Und auch hier hat es bei einigen ziemlich lange gedauert, bis sie ihre Bazillen verloren haben.

IV. Etwas abweichend von den bisher geschilderten Formen von Schulepidemien verlief die Diphtherie in einer vierten, von uns beobachteten Schule. Zum besseren Verständnis diene folgende Skizze der betroffenen Klassenräume (s. S. 42).

Die skizzierten Räume befinden sich im Parterre des Schulgebäudes; andere Klassen der Schule, sowie die räumlich eng mit ihr vereinte Mädchenschule sind frei geblieben.



Am 6. V. erkrankte in der Klasse *b* der Knabe Br. und fehlte 5 Tage wegen Halsschmerzen; am 18. V. erkrankte ein anderer Knabe an Diphtherie, am 20. V. ein weiterer an Diphtherie. Am 22. V. kamen vier neue Diphtheriefälle vor, am 24. V. erkrankte der vorher halskranke Knabe Br. an Diphtherie, und am 26. und 27. V. schlossen sich zwei weitere Diphtheriefälle und eine Halsentzündung an. Dann kamen die Pfingstferien; als jedoch unmittelbar nach den Ferien am 9. VI. ein neuer Diphtheriefall gemeldet wurde, und ein anderes Kind aus unbekannten Gründen fehlte, veranlaßte der Schularzt den Schluß der Klasse, Desinfektion des Klassenraumes und die bakteriologische Untersuchung



Skizze der Klassenräume

der Klasseninsassen. Inzwischen kam in der Klasse *c* ein Fall von Diphtherie vor bei einem Knaben, dessen Nachbar einen Bruder in der infizierten Klasse hatte. Dieser Bruder erkrankte am 9. VI. ebenfalls an Diphtherie. Weitere Fälle kamen in dieser Klasse nicht vor. Dagegen erkrankte am 23. VI. ein Schüler der Klasse *d* an Diphtherie, am 24. VI. sein Nachbar und am 26. VI. der andere Nachbar. Nunmehr schloß der Schularzt auch diese Klasse bis zum Beginn der großen Sommerferien. Von einer bakteriologischen Untersuchung dieser Klasse wurde Abstand genommen, da ja ein Schulschluß von etwa 7 Wochen in Aussicht stand.

Das Freibleiben aller anderen Klassen der Schule läßt schließen, daß die Korridorgemeinschaft der erwähnten Klassen die Übertragung des Infektionsstoffes von einer Klasse zur anderen ermöglicht hat. Der Fall in Klasse *c* ist wahrscheinlich als Infektion durch einen Bazillenträger zu erklären; der Weg der Keime in die Klasse *d* läßt sich nicht feststellen; hier aber springt der Infektionsstoff von Nachbar zu Nachbar über.

Die Hauptinfektion der Schule hat jedenfalls in Klasse *b* stattgefunden; die dort vorgenommene bakteriologische Untersuchung der Kinder ergab bei mehrmaliger Untersuchung das Vorhandensein eines einzigen Bazillenträgers, der vorher nicht krank gewesen war.



Diese geringe Verbreitung des Infektionsstoffes unter den gesunden Schülern ließ es fraglich erscheinen, ob wir es hier wirklich mit einer Klassenepidemie sensu strictiori zu tun haben. Wir stellten deshalb die Wohnungen der Erkrankten fest durch Ermittelungen, die der Schularzt der Anstalt, Hr. Dr. **Rietz**, vornahm und fanden folgendes:

1. Fall	(Knabe Br., der wahrscheinlich schon beim ersten Fehlen diphtheriekrank gewesen war)	Eylauerstr. 19	(6. V.)
2. Fall	. . . .	Kreuzbergstr. 21	(18. V.)
3. Fall	. . . .	Kreuzbergstr. 30	(20. V.)
4. Fall	. . . .	Kreuzbergstr. 5	(22. V.)
5. Fall	. . . .	Katzbachstr. 22	(22. V.)
6. Fall	. . . .	Eylauerstr. 18	(22. V.)
7. Fall	. . . .	Eylauerstr. 16/17	(22. V.)
8. Fall	. . . .	Möckernstr. 70	(26. V.)
9. Fall	. . . .	Möckernstr. 75	(27. V.)
10. Fall	. . . .	Eylauerstr. 19	(1. V.)
11. Fall	(zweifelhaft)	Möckernstr. 70	(9. V.)

Dazu kommen noch zwei weitere Fälle, bei denen Diphtherie nicht sichergestellt ist: Yorkstr. 58 und 63

und ein Fall von Diphtherie, der schon am 3. IV. in der Klasse vorkam und die Wohnung: Eylauerstr. 25 betrifft.

Abgesehen von der Yorkstraße, in der die zweifelhaft Erkrankten wohnen, liegen alle diese Häuser sehr nahe zusammen, wie ein Blick auf die Karte von Berlin lehrt. Das Haus Eylauerstr. 19 scheint besonders betroffen zu sein, hier ist auch noch ein schulpflichtiges Mädchen erkrankt. Vielleicht hat die erste, leicht verlaufene Erkrankung des Knaben Br., der vom 10. bis 24. V. klinisch genesen schien, später aber nochmals erkrankte, den Grund zur Weiterverbreitung der Infektion gelegt; denn gerade sein Wohnhaus ist stark infiziert und die Nachbarhäuser Nr. 16, 17 und 18 sind ebenfalls befallen. Auch die anderen, oben angeführten Wohnungen liegen nur wenige Minuten von hier entfernt. Anhaltspunkte für den Charakter der Epidemie als Häuser- und Wohnungsseuche liegen somit vor. Bemerkenswert ist jedoch, daß schulpflichtige Mädchen, deren es eine ganze Anzahl in den verseuchten Häusern gab, mit einer Ausnahme **nicht** an Diphtherie erkrankt sind.

Die Ätiologie dieser Epidemie ist demnach nicht völlig aufzuklären gewesen; immerhin spricht vieles dafür, daß die Übertragung der Diphtherie unter den Schülern der Klasse *b* in den Wohnhäusern und auf den Straßen erfolgt ist, nicht aber durch die Schule selber. Und so ließe sich auch die verschwindende Zahl von nur einem Bazillenträger erklären.



Gleichzeitig ist diese Beobachtung ein Beweis dafür, daß nicht etwa generell das Vorkommen von Bazillenträgern in den Berliner Gemeindeschulen ein beträchtliches ist, daß vielmehr die Ausstreuung der Diphtheriekeime an epidemisch auftretende Erkrankungen gebunden ist.

Wenn wir von diesem durch mancherlei Besonderheiten ausgezeichneten Falle absehen, so war sonst in allen Fällen das rechtzeitige Einsetzen hygienisch-prophylaktischer Maßnahmen imstande, die Epidemien zu koupieren bzw. ihre weitere Ausdehnung zu verhindern. Wir halten es deshalb für unerläßlich, in allen Fällen gehäuften Auftretens von Diphtherie in Schulen die systematische Untersuchung auf Infektionsträger aufzunehmen.

Unser praktisches Vorgehen hat gezeigt, von welchen Gesichtspunkten aus das zu geschehen hat; gleichwohl möchte ich nochmals zusammenfassend das Arbeitsfeld umgrenzen: Wir glauben, daß sich in manchen Fällen von Diphtherieepidemien ein Schließen der Klasse vermeiden lassen wird. Treten mehrere Fälle von Diphtherie in einer Klasse auf, so sollte der Schularzt die bakteriologische Untersuchung der übrigen Kinder veranlassen. Ergeben sich viele Bazillenträger, oder ist etwa die Lehrperson infiziert, so ist aus Zweckmäßigkeitsgründen die Klasse zu schließen, ist die Zahl nur gering, so sind die infizierten Kinder einstweilen vom Schulbesuch fernzuhalten. Die bakteriologische Untersuchung soll sodann in kurzen Zwischenräumen noch zweimal wiederholt werden; es gelingt so, in manchen Fällen noch Bazillenträger zu entdecken, die der ersten Untersuchung entgangen sind. Die Bazillenträger werden mit Instruktionen für die Eltern versehen und zum Gurgeln angehalten. Kein Kind aber, das als Infektionsträger erkannt wurde oder in dieser Zeit halskrank war, darf die Schule früher besuchen, als bis es durch wiederholte bakteriologische Untersuchung als bazillenfrei erkannt worden ist; in besonderem Maße gilt das für alle Diphtherierekonvaleszenten. Gerade nach dieser Richtung hin wird viel gesündigt. Oft genug kommen diphtheriekranke Kinder zu früh in die Schule zurück; sie beherbergen noch den Infektionsstoff, streuen ihn aus und machen so aus dem vereinzelten Krankheitsfalle erst die Epidemie. Allerdings schreibt der Gesetzgeber (Ausführungsbestimmungen) vor, daß Kinder, die an Diphtherie erkrankt waren, erst zum Schulbesuch wieder zugelassen werden sollen, wenn eine Weiterverbreitung der Krankheit durch sie nicht zu befürchten ist. Leider aber wird nicht immer danach gehandelt. Einmal wird nicht jede klinisch leicht verlaufende Diphtherie erkannt, sodann aber scheuen noch viele Ärzte die kleine Mühe der bakteriologischen Unter-



suchung, trotzdem ihnen ja jetzt unentgeltlich Institute zur Verfügung stehen, die innerhalb 24 Stunden einen bakteriologischen Bescheid abgeben können. Die Schulärzte kennen diesen Mangel und haben deshalb in Berlin beschlossen, kein Kind, das an Diphtherie erkrankt war, vor Ablauf von 4 Wochen[1] wieder zum Unterricht zuzulassen, da erfahrungsgemäß in diesem Zeitraum klinische und bakteriologische Genesung einzutreten pflegt. Das ist ein Notbehelf, aber nicht mehr; es kommen jedenfalls Fälle vor, in denen die Bazillen sich länger im Rachen der Erkrankten halten, und dann werden ja, wie ich schon erwähnte, nicht alle Diphtherien als solche erkannt bzw. angezeigt. Andererseits ist der Zeitraum von 6 Wochen für manche leichte Krankheitsform zu lang bemessen. Es wäre deshalb sehr wünschenswert und eine erfolgreiche prophylaktische Maßnahme, wenn auch in seuchenfreien Zeiten halskrank gewesene Kinder regelmäßig vor Schuleintritt bakteriologisch untersucht werden könnten. In diesem Sinne suchen wir auch auf die uns bekannten Ärzte einzuwirken.

Von sonstigen prophylaktischen Maßnahmen kommen in Betracht: Schulschluß, Desinfektion und Schutzimpfung. Ist die Ausdehnung der Epidemie eine erhebliche, oder werden viele Bazillenträger gefunden, so ist ein Schließen der Klasse angezeigt. Schon in dieser schulfreien Zeit aber müßte alsdann mit den bakteriologischen Untersuchungen begonnen werden.

Eine Desinfektion der Klassenräume ist unbedingt erforderlich, wenn Anzeichen für eine Infektion der Räume bestehen, zweckmäßig auch bei Schulschluß; sonst kann sie wohl entbehrt werden.

Was schließlich die Serumbehandlung anlangt, so ist ja bekannt, daß die Einspritzung von Heilserum gesunde Kinder auf einige Wochen vor der Diphtherieinfektion zu schützen vermag; Bazillenträger aber macht eine solche Behandlung nicht unschädlich. Wir haben daher auf die Anwendung der Schutzimpfung in allen diesen Fällen verzichtet, um so mehr, als Heilserum den Ärzten ja nicht unentgeltlich zur Verfügung steht.[2]

Gegen unser Vorgehen, wie ich es eben dargestellt habe, kann man nun einen Einwand erheben. Man könnte sagen: „Allerdings ihr reinigt die Schule von Infektionsquellen, aber ihr schickt sie dafür hinaus in die Wohnungen und auf die Spielplätze.“ Wir müssen erwidern: „Gewiß, eine solche Möglichkeit liegt vor; aber erstens instruieren wir die Kinder

[1] Neuerdings sind 6 Wochen vorgeschlagen worden. (Bernhard, Berlin.)

[2] Es sei hier nochmals auf die Mitteilungen von Lesieur hingewiesen, der in Lyon mit gutem Erfolge von der Serumprophylaxe Gebrauch gemacht hat, daneben jedoch auch der Ausmerzung aller Bazillenträger volle Aufmerksamkeit schenkte.



und lassen sie gurgeln, zweitens bleiben sie oft nicht lange Bazillenträger und drittens, und das scheint mir das Wichtigste, sind diese Kinder als gefährlich gekennzeichnet. Eltern und Umgebung wissen, daß sie es mit einer Infektionsquelle zu tun haben, und können bei einiger Intelligenz genügend Vorsichtsmaßregeln treffen. Wer eine Gefahr erkennt, der hat auch die Möglichkeit, sie zu vermeiden. Und schließlich: Der Verkehr außerhalb der Schule besteht in jedem Falle; durch das Fernhalten der infizierten Kinder von der Klasse wird er herabgesetzt und auf kürzere Zeiten eingeschränkt, der nahe Verkehr in der Schule und auf dem Schulweg fällt weg.

Ein Wort noch über die therapeutische Behandlung der Bazillenträger. Die große Zahl der vorgeschlagenen Mittel allein beweist schon, daß wir ein wirklich brauchbares Bekämpfungsmittel noch nicht besitzen. Wenn wir gleichwohl auf die Anordnung desinfizierender Mundbehandlung nicht verzichten, so geschieht das hauptsächlich aus erziehlichen Gründen. Wir wollen damit moralisch auf Eltern und Kinder einwirken, beide immer wieder daran erinnern, daß die Kinder besonderer Behandlung, besonderer Aufsicht bedürfen, um so die Gefahr, die der Bazillenträger für sich und andere darstellt, nach Möglichkeit zu verringern.

B. Epidemien in Erziehungsanstalten.

Einen Übergang zwischen den Schulepidemien und jenen in geschlossenen Krankenanstalten stellen zwei Diphtherieepidemien dar, die wir vor einiger Zeit in zwei Kindererziehungsanstalten in der Umgebung Berlins beobachten konnten.

I.

In dem einen Fall, der in einer Heimstätte spielte, ließ sich der durchaus eigenartige Seuchengang weniger gut durch die bakteriologische Kontrolle erkären, als vielmehr durch die logische Analyse.

Die epidemiologischen Nachforschungen ergaben nämlich, als wir mit der Bekämpfung der Epidemie betraut wurden, folgendes über den bisherigen Verlauf der Seuche: In der Heimstätte, die schwächlichen Knaben zu mehrwöchigem Erholungsaufenthalt dient, war seit Jahren kein Diphtheriefall vorgekommen. Da erkrankte am 15. III. 1911 der Knabe W. an leichter Halsentzündung; nach 2 Tagen war er wieder gesund. Am 17. III. erkrankte ein anderer Knabe, der mit dem ersten im gleichen Zimmer geschlafen hatte, an Halsentzündung und am 20. III. wurde er wegen Diphtherie ins Krankenhaus geschafft. Am gleichen Tage ein



zweiter Fall von Diphtherie (Abtransport ins Krankenhaus). Am 21. III. und 23. III. je ein neuer Fall (Krankenhaus); am 25. III. vier weitere Fälle, am 26. III. ein neuer Fall; und am 27. III. erkrankt der zuerst erkrankt gewesene Knabe W. an typischer Diphtherie.

Im ganzen also 10 Diphtheriefälle innerhalb von 12 Tagen im Anschluß an die Halsentzündung des Knaben W. Es ist hiernach im höchsten Maße wahrscheinlich, daß diese Halsentzündung am 15. III. bereits eine leichte Diphtherie gewesen ist, daß von hier aus die Ausstreuung des Infektionsstoffes weiter erfolgt ist und zum Auftreten der Epidemie geführt hat. Der Knabe W. selbst, der augenscheinlich Bazillenträger geblieben war, erkrankte nach 12 Tagen nochmals an seinen eigenen Bazillen. Solche „return cases" sind ja keine Seltenheiten in der Epidemiologie der Diphtherie.[1]

Soweit war der Seuchengang der Diphtherie erklärt, offen blieb nur noch die Frage: „Wie kam der Infektionsstoff in die Anstalt hinein?" Hier kam uns ein Zufall zu Hilfe: Der Knabe Ö. erhielt um diese Zeit von seiner Mutter Besuch. Im Laufe des Gesprächs erfuhr die Oberschwester von ihr folgendes: Seit Weihnachten 1910 hat das Kind wegen Diphtherie im Krankenhaus gelegen; im Februar kam es nach Hause und am 27. II. wurde es in die Heimstätte überführt. Am gleichen Tage erkrankte die Mutter an Diphtherie und mußte ebenfalls das Krankenhaus aufsuchen. Es ist daher anzunehmen, daß der Knabe Ö. nach seiner Krankheit Bazillenträger geblieben ist, daß er zu Hause seine Mutter infiziert hat und gleichzeitig den Infektionsstoff in die Anstalt mit hineingebracht hat. Den direkten Beweis für diese höchstwahrscheinliche Annahme können wir leider nicht erbringen; denn bei der am 31. III. begonnenen und mehrfach wiederholten bakteriologischen Untersuchung konnten bei dem Knaben Ö. Diphtheriebazillen nicht mehr gefunden werden.

Die eigentliche Bekämpfung der Epidemie bestand wiederum in der Aussonderung von Bazillenträgern, die nach Möglichkeit isoliert und gleichzeitig mit Diphtherieserum schutzgeimpft wurden. Es fanden sich nur drei Bazillenträger unter 47 Personen. Ihr bakteriologisches Verhalten war das folgende (Untersuchungen in Zwischenräumen von 6 Tagen):

Name	Untersuchungsresultate	Bemerkungen
C. C.	+ + + +	
M. H.	+ + + +	Halsentzündung vor 8 Tagen.
H. P.	+ — — —	Halsentzdg. mit subfebrilen Temperaturen.

[1] Vgl. den wahrscheinlich analogen Fall bei der vierten Schulepidemie.



Die Zahl der gefundenen Bazillenträger ist im Verhältnis zur Ausdehnung der Epidemie recht gering; und von den drei gefundenen haben zwei anscheinend leichte Diphtherien durchgemacht, so daß nur ein gesunder Keimträger übrig bleibt. Hierzu kommt die Beobachtung, die wir bei der Entnahme des Materials machen konnten: Fast alle Kinder zeigten ausgesprochen lymphatischen Charakter, Drüsenschwellungen, hypertrophische Mandeln, adenoide Wucherungen, sehr schlechte Zähne usw.; sie boten also für eine Infektion mit Diphtheriebazillen den denkbar günstigsten Boden. So erklärt es sich auch, warum wir nur einen gesunden Bazillenträger fanden: Fast alle Kinder, die den Infektionsstoff aufnahmen, sind auch erkrankt, die einen leichter, die anderen schwerer; und nur bei einem kam es nicht zur Ausbildung der Diphtherie.

Unter diesen Umständen ist natürlich das Auffinden dreier bisher nicht abgesonderter Infektionsquellen von der allergrößten Bedeutung gewesen.

Die Keimträger wurden mit Diphtherieserum gespritzt und abgesondert, soweit sich das durchführen ließ. Insbesondere wurden sie beim Schlafen, Essen und Spielen von den anderen Kindern getrennt. Gleichwohl erkrankte 8 Tage später noch ein Knabe an Diphtherie. Dies Kind, das dreimal mit negativem Erfolge untersucht worden war, zeichnete sich schon bei den ersten Untersuchungen durch eine intensive Gaumen- und Rachenrötung aus.

Da weitere Erkrankungen nicht vorgekommen sind, eine andere Ansteckungsquelle auch nicht nachweisbar war, so kann man wohl annehmen, daß die Absperrung der Bazillenträger keine absolute war (was sich in diesem Falle praktisch auch schwer durchführen ließ), und einer der Bazillenträger doch Gelegenheit zur Weiterverbreitung des Diphtheriekeimes gefunden hat. Jedenfalls entschloß sich der ärztliche Leiter der Anstalt nunmehr, sämtliche infizierten Kinder (gesunde und kranke) in ein Krankenhaus zu überweisen.

II.

Ähnlich lagen die Verhältnisse in einem privaten Erziehungs- und Waisenhaus in der Nachbarschaft Berlins.

Am 27. VI. erkrankten drei Kinder in der sonst ganz seuchenfreien Anstalt plötzlich an Diphtherie; die Betten zweier dieser Kinder standen im Schlafsaal nebeneinander; die dritte Erkrankte war ein größeres Mädchen, das beim Aufräumen dieses Schlafzimmers half. Am nächsten Tage wurde bei einem wiederum benachbart schlafenden Kinde, das schon einige Zeit an Schnupfen litt, Nasendiphtherie festgestellt. Am 29. VI. kamen zwei neue Fälle von Diphtherie vor und eine verdächtige Hals-

entzündung. Die beiden ersten wiederum in dem gleichen Schlafsaal und in der gleichen Bettreihe unter Überspringung eines Bettes. In anderen Räumen des Hauses waren Erkrankungen nicht vorgekommen. Alle erkrankten Kinder wurden sofort in einem besonderen Hause isoliert; sie selbst sowie alle gesunden Kinder wurden schutzgeimpft. Am 3. VII. wurde mit der bakteriologischen Untersuchung der gesunden Kinder und des Pflege-, Lehr- und Dienstpersonals (im ganzen 84 Personen) begonnen. Gefunden wurden zwei gesunde Bazillenträger, die gleichfalls sofort abgesondert wurden und bis zum dreimaligen negativen Befunde isoliert blieben. Ebenso durften die erkrankt gewesenen Kinder nicht früher das Infektionshaus verlassen, als bis sie auch bakteriologisch genesen waren (s. Tabelle).

Am 2. Tage nach der zweiten Untersuchung erkrankte ein Kind, das zweimal bazillenfrei befunden und 10 Tage vorher schutzgeimpft war, plötzlich an Diphtherie, und bei der folgenden dritten Untersuchung wurden nunmehr zwei neue Bazillenträger gefunden, darunter eine Lehrerin, die erst wenige Tage vorher in die Anstalt eingetreten war und die zum ersten Male untersucht wurde. Es mußte also in der Zwischenzeit eine erneute Verbreitung des Infektionsstoffes stattgefunden haben. Wie sie zustande gekommen ist, blieb dunkel, eine Einschleppung durch die Lehrerin war unwahrscheinlich; auch die auffallende Tatsache, daß ein schutzgeimpftes und zweimal mit negativem Erfolge untersuchtes Kind plötzlich an Diphtherie erkrankt, unmittelbar im Anschluß an eine negative Untersuchung, vermögen wir nicht zu erklären. Immerhin kann uns aber dieser Ausnahmefall weder in unseren theoretischen Anschauungen noch an unserem praktischen Vorgehen irre machen. Interessant ist auch in dieser Epidemie wieder die Quelle der Infektion. Das Kind, das, wie oben erwähnt, mit Nasendiphtherie behaftet war, wurde als infektiös erst festgestellt, als die Schlafkameradinnen erkrankt waren; vorher hatte der relativ leichte, nur etwas hartnäckige Schnupfen keinen Anlaß zu besonderer Untersuchung gegeben. Das Kind beherbergte seine Bazillen offenbar schon längere Zeit, ging frei umher, spielte und arbeitete mit den anderen Kindern und konnte den Infektionsstoff so weiter ausstreuen. Es ist als ein glücklicher Zufall zu betrachten, daß unter diesen Umständen die Seuche nicht stärker um sich gegriffen hat; es spielen hier wohl die besonders günstigen hygienischen Bedingungen, unter den die Kinder lebten, eine wichtige Rolle. Wie aber kam dies Kind zu seiner Nasendiphtherie? — Auch hierfür liegt nachträglich die Erklärung vor: das Kind war vom 3. bis 8. VI. auf Urlaub zu Hause, gleichzeitig zu Hause war ein Bruder, der kurze Zeit vorher wegen Nasendiphtherie im Krankenhause gelegen hatte. Am 8. VI. kehrte das Kind in die An-



stalt zurück, einige Zeit später trat der verhängnisvolle Schnupfen auf, der erst am 28. VI. als Nasendiphtherie erkannt wurde, nachdem er in der Zwischenzeit zu Ansteckungen reichlich Gelegenheit geboten hatte. Es ist beachtenswert, wie lange mitunter ein Bazillenträger in einem gesunden Milieu weilen kann, ehe es zu klinischen Ansteckungen kommt.

Verhalten der Bazillenträger und Rekonvaleszenten.
(Untersuchungen in Zwischenräumen von 6 Tagen.)

Name	Resultat der Untersuchung	Bemerkungen
M. D.	+ — — —	Bazillenträger
H. F.	+ — — —	„
G. L.	— — + + $\underline{-}$N. + — — — (14. VIII.)	„ (13. VII.)
Frl. An.	+	„ , entlassen
E. F.	∓N. $\underline{-}$N. — — (4. VIII.)	erkrankt (1. VII.)
C. K.	+ $\underline{-}$N. — — (4. VIII.)	„ (24. VI.)
T. R.	+N. —N. — — (4. VIII.)	„ (29. VI.)
T. S.	+ + + + + — — + — — — (7. IX.)	„ (27. VI.)
E. S.	— —N. — (29. VII.)	„ (28. VI.)
E. St.	$\underline{-}$N. $\underline{-}$N. — (29. VII.)	„ (24. VI.)
E. B.	+ $_{+}$N. — — — (10. VIII.)	„ (8. VII.)

(N. = Nasensekret.)

C. Epidemien in Krankenanstalten.

Während es sich bisher um plötzlich einsetzende und wieder erlöschende Epidemien handelte, herrscht die Diphtherie in Säuglingsheimen und Kinderkrankenhäusern meist in Form einer Endemie. Das heißt: Die Seuche hat sich eingenistet, sie erlischt nicht; immer wieder kommen neue Fälle vor, nicht selten durch infektionsfreie Wochen unterbrochen; mitunter flammt sie auf, die Erkrankungen häufen sich, dann folgt ein Nachlassen, aber ganz verschwindet sie nie. Die Krankheit ist zur Hospitalseuche geworden; jeder Neuaufgenommene ist bedroht. In manchen Anstalten (so bei Heubner) werden deshalb alle Kinder sofort nach der Einlieferung mit schützenden Dosen Heilserums behandelt, immunisiert. Leider aber ist dieser Schutz kein dauernder; die Wirkung erlischt nach einigen Wochen; jetzt könnte man ja die Immunisierung wiederholen, doch ist man gerade in der letzten Zeit mit der Wiederholung von Seruminjektionen etwas zurückhaltender geworden, weil man die Überempfindlichkeitserscheinungen fürchten gelernt hat. Idealer wäre

jedenfalls eine Methode, die den Infektionsstoff entfernen und so Infektionen ausschalten würde. Der Infektionsstoff aber, der durch irgend eine Einschleppung von außen einmal in die Anstalt hereingekommen ist, haftet nicht an den Räumen und der Luft, sondern vorwiegend wieder an den Insassen, Pflegepersonal und Kindern. Das erhärten unsere Beobachtungen mit aller Bestimmtheit.

I.

Ich beginne mit einer Anstalt in der Umgebung Berlins, in der idiotische Kinder aufgezogen werden. Diese Anstalt sandte dem Untersuchungsamt vom November 1909 bis zum Juni 1910 in größerer Anzahl Proben diphtherieverdächtigen Materials. Nicht selten konnten Diphtheriebazillen nachgewiesen werden, so im November und Dezember je einmal, im Januar und Februar je dreimal, im März nicht, im April und Mai je fünfmal. Die Zahl der Insassen jener Anstalt ist eine recht große, die Zahl der Erkrankungen daher nicht so bedeutungsvoll; immerhin aber traten im Laufe der Monate doch stets wieder neue Fälle auf. Gerade dies hartnäckige Haften des Krankheitserregers, das zu immer neuen Infektionen führte, lenkte unseren Verdacht auf das Vorhandensein von Bazillenträgern. Dazu kam noch die räumliche Verteilung der sich über Monate erstreckenden Fälle, die stets dasselbe Haus betrafen.

Es wurde daher mit dem Direktor der Anstalt verabredet, daß sämtliche Insassen des Kinderhauses (Lehrer, Pflege- und Wärterpersonal einbegriffen) der bakteriologischen Untersuchung unterzogen, daß diese Untersuchungen an jeder Person dreimal wiederholt, und daß die etwa ermittelten Bazillenträger sofort isoliert und nach Vorschlag des Anstaltsleiters einer energischen Lokalbehandlung (Jodjodkaliumlösung) unterworfen werden sollten. Die Ärzte der Anstalt übernahmen die Materialentnahme, die bakteriologische Untersuchung erfolgte im Untersuchungsamt. Im ganzen handelte es sich um 126 Personen. Während diese systematischen Untersuchungen in Angriff genommen wurden, erkrankten noch zwei Kinder an Diphtherie.

Wenn wir von diesen beiden auch klinischen Diphtherieerkrankungen absehen, so ist das Resultat unserer Untersuchung, daß sich unter 126 Personen des Kinderhauses 13 Bazillenträger, also etwas über 10 Prozent befanden.

Das Vorhandensein dieser 13 Infektionsträger, die ohne jede Vorsichtsmaßregel bisher mit den anderen Insassen verkehrt hatten, genügt vollständig, die nicht abreißende Kette der Diphtherieerkrankungen in der Anstalt zu erklären.

4*



Bazillenträger.

Name	Untersuchungsresultat	Bemerkungen
H. B.	+ – + + + – – –	
H. E.	+ + – – – –	
K. G.	– + – – –	beim zweiten Mal Angina.
L. H.	– – + – – –	
K. K.	– + + – – + + – + + – – – –	
A. S.	+ – – + + – – –	
W. S.	+ – – – –	
K. S.	– + (–) + + – – –	beim zweiten Mal erkrankt. (–) Ohrsekret (Otitis media).
Pflegerin S.	– + + + – + + + – + – – – – + + + – + + – – – – –	hat K. S. gepflegt.
W. T.	+ – – – + – + – – –	
E. W.	– – + – + – – –	beim dritten Mal erkrankt.
H. W.	+ – – – –	
R. Z.	– – + – – –	

Im einzelnen ist zu dem Resultate noch folgendes zu bemerken: Die Bazillenträger, die sofort isoliert wurden, sind verschieden zu bewerten. Bei einigen kam es anscheinend nur zu einer vorübergehenden Keimträgerschaft, da hier nur **einmal** der Nachweis des Erregers geführt werden konnte; andere wiederum behielten ihre Bazillen sehr lange und setzten große Schwierigkeiten der Behandlung entgegen. Besonders zwei, darunter eine Pflegerin, gaben bis in die letzte Zeit hinein immer wieder ein positives Untersuchungsergebnis (bis zu 9 Monaten). Wie gefährlich gerade bei einer **Pflegerin** solch langes Bazillenträgertum ist, braucht nicht besonders hervorgehoben zu werden. Der enge Umgang mit den Patienten muß die Übertragung von Infektionserregern noch besonders begünstigen. Interessant ist übrigens, daß diese Pflegerin erst Bazillenträgerin wurde, nachdem sie ein damals gerade erkranktes Kind (K. S.) gepflegt hatte; ein weiterer Beweis, wie leicht eine Übertragung zwischen Kranken und Pflegepersonal vorkommen kann.

Bemerkenswert ist ferner, daß selbst ein dreimaliges negatives Resultat nicht die **absolute** Sicherheit gibt, daß der betreffende Patient nun dauernd bazillenfrei ist. Bei dem Knaben W. T. wurden beim vierten Mal wieder Diphtheriebazillen gefunden; bei der Pflegerin S. traten sie sogar nach viermaligem Fehlen wieder auf. Die Forderung des **dreimaligen negativen Befundes zur Erklärung der Bazillenfreiheit des Keimträgers muß daher als eine Mindestforderung angesehen werden.**



Gleichfalls beachtenswert ist ein anderer Fall. Als wir hier den Befund von Diphtheriebazillen meldeten, teilten uns die Ärzte der Anstalt mit, daß bei der sofort vorgenommenen Untersuchung eine Halsentzündung konstatiert wurde, über die das Kind garnicht geklagt hatte. Wahrscheinlich handelte es sich daher in diesem Falle um eine besonders leicht verlaufende Diphtherie.

Der Erfolg, den wir durch die Erkennung und Isolierung der Bazillenträger erzielt haben, ist ein erfreulicher. Seit Juni 1910 bis Anfang März 1911 ist nur ein Fall von Diphtherie zur Beobachtung gekommen; im Vergleich mit den Vormonaten ein zwingender Beweis, daß die alte Quelle, die viele Monate hindurch immer wieder zu neuen Erkrankungen geführt hatte, durch unser methodisches Vorgehen verstopft worden war.

Natürlich kann eine derartige Sanierung nicht gegen die Neueinschleppung von Infektionsstoff schützen. Diese Erfahrung mußten wir erst in jüngster Zeit wieder machen. Der lebhafte Besuchsverkehr, der in der Anstalt herrscht, bietet stets Gelegenheit zur Einschleppung von Krankheiten, und so traten plötzlich, explosionsartig an 2 Tagen 8 Neuerkrankungen an Diphtherie auf. Hier war augenscheinlich eine neue Infektionsquelle entstanden; die ausbrechende Epidemie mußte daher schleunigst zum Stillstand gebracht werden. In diesem Fall machten wir von der Schutzimpfung Gebrauch. Sämtliche Kinder der Abteilung wurden mit Diphtherieserum gespritzt und von diesem Augenblick an hörten Neuerkrankungen auf. Der eigentliche Kampf aber begann erst später; denn die vermutlich ausgestreuten Keime werden ja durch das Serum nicht unschädlich gemacht. Wir hatten mit der Seuche gewissermaßen einen Waffenstillstand geschlossen. Vor Ablauf desselben, also vor Ablauf der Serumschutzfrist, wurde der Kampf gegen die Bazillen wieder aufgenommen.

Sämtliche Insassen der Abteilung, gesunde und erkrankte, wurden unter bakteriologische Kontrolle genommen. Bazillen wurden bei den folgenden gefunden:

Name	Untersuchungsresultat	Bemerkungen
P. B.	+ — + — —	erkrankt
K. H.	+ + — — —	"
E. K.	+ — — —	
W. R.	+ + — — —	"
K. S.	+ + — — —	"
A. S.	+ — — —	"



Name	Untersuchungsresultat		Bemerkungen
Pflegerin S.		+ — — —	erkrankt nach Pflege auf Diphtheriestation.
„ Se.		+ —	
H. W.	—	+ — — —	
W. Z.	+	— — —	erkrankt
A. Z.	+	+ — — —	„

In der ersten Kolumne steht der Befund verzeichnet, der während der Epidemie, Anfang März, erhoben wurde. Die zweite Kolumne stellt die Nachuntersuchungen dar, die 14 Tage später begannen und in 8 tägigen Intervallen wiederholt wurden. Es zeigte sich, daß nach 2 Wochen noch fast alle Erkrankten Bazillen heherbergten, die nach 3 Wochen bei den meisten verschwunden waren. Frisch mit Bazillen infiziert hatten sich in den 14 Tagen bis zu Beginn der Untersuchungen 3 Personen: 2 Pflegerinnen, von denen die eine erkrankte (sie war nicht schutzgeimpft worden) und der Knabe H. W., der auch $^3/_4$ Jahr vorher schon vorübergehend Bazillenträger gewesen war. Es ist kaum anzunehmen, daß dieser Knabe dauernd Keimträger geblieben ist, zumal er in der Zwischenzeit bei 5 maliger Untersuchung stets negativen Befund gegeben hatte, auch im Beginn der Epidemie (März 1911) bazillenfrei gewesen war. Vielleicht gibt es, wie für das Auftreten von Halsentzündungen, eine gewisse Disposition auch für das Entstehen einer Keimträgerschaft.

Neuerkrankungen sind, abgesehen von der einen Pflegerin, seit Beginn der Bekämpfungsmaßnahmen nicht mehr vorgekommen; das Vorhandensein zweier gesunder Bazillenträger aber, darunter wiederum eine Pflegerin, ist Beweis genug, wie wichtig derartige Untersuchungen für die rationelle Diphtheriebekämpfung sind.

II.

In besonderem Maße, wie schon dies Beispiel lehrt, ist das Pflegepersonal in Kinderheimen der Ansteckung mit Diphtheriebazillen ausgesetzt. Da Erwachsene im allgemeinen seltener erkranken, so werden sie leicht zu Trägern des Infektionsstoffes und können nun ihrerseits die Krankheit weiter verbreiten. Es sind Beobachtungen zur Genüge bekannt, nach denen eine Pflegerin, ohne selbst zu erkranken, die Infektion vom kranken zum gesunden Kinde übertragen hat; wo die Infektion gleichsam mit der Pflegerin wanderte und ihr nachfolgte, wenn sie auf andere Stationen übersiedelte. Ähnliche Beobachtungen wurden vor einiger Zeit auch in einem Berliner Kinderheim gemacht. Als wir nun sämtliche Pflegerinnen bakteriologisch durchuntersuchten, fanden wir unter 27 Personen

10 Bazillenträgerinnen. Die Epidemie grassierte in dieser Zeit besonders stark in der Anstalt, so daß diese beträchtliche Infektion des Pflegepersonals schon erklärlich war. Damit aber hatte sich ein circulus vitiosus herausgebildet; denn das Pflegepersonal infizierte, nachgewiesenermaßen, wieder neue Kinder.

Wenn auch in diesem Falle aus praktischen Gründen von einer Isolierung der Bazillenträger Abstand genommen wurde, so war der Hauptgefahr doch entgegengetreten. Die Pflegerinnen unterzogen sich einer lokalen Behandlung und wußten vor allen Dingen, daß sie im Verkehr mit den Kindern ganz besonders vorsichtig sein mußten.

Mehr als ein Kompromiß zwischen der idealen Forderung und den praktischen Möglichkeiten war jedenfalls hier nicht zu erreichen gewesen. Dagegen versuchten die Ärzte der Anstalt, durch generelle und wiederholte Immunisierungen die Diphtherieziffer herunterzudrücken. Der Erfolg war, wie ich erfahre, kein sehr befriedigender.

Das Verhalten der Bazillenträger zeigt folgende Tabelle (leider konnten die Untersuchungen aus äußeren Gründen nicht durchweg zu Ende geführt werden):

Name	Untersuchungsresultat	Bemerkungen
B.	— + — — + + — —	sämtlich gesunde Pflegerinnen
F.	— + — — + — —	
G.	— + — — —	
H.	— + + — — —	
K.	+ —	
Ki.	— + — — —	
M.	— + + + +	
P.	— + — — —	
St.	+ + + — — —	
W.	— — + — — —	

III.

Außerordentlich interessant und lehrreich sind sodann die Erfahrungen, auf die ich jetzt zu sprechen komme, Erfahrungen, die in einem großen Kinderkrankenhause gesammelt wurden und die in ihrer Vielgestaltigkeit und in der Mannigfaltigkeit äußerer Bedingungen Beispiele darbieten, die mit der Deutlichkeit von Laboratoriumsexperimenten sprechen. Wir konnten in der Tat Untersuchungen und Bekämpfungsmaßnahmen, Vorsichtsmaßregeln und Unterlassungen unter den verschiedensten äußeren Umständen zur Durchführung bringen und verfügen dadurch über ein Material, das eine ausführliche Besprechung vom Standpunkte der Diphtherieepidemiologie sehr lohnend gestaltet.

Die Anstalt, um die es sich handelt, ist ein Kinderkrankenhaus, das über 8 Krankenstationen für allgemein Kranke verfügt, daneben eine Diphtherie-, eine Keuchhusten- und eine Scharlachstation besitzt und für den Notfall eine feste Baracke. Außerdem sind vorhanden 2 Säuglingshäuser für gesunde Kinder, 1 Säuglingskrankenstation und 2 Stationen, die für kleinere Kinder bestimmt sind.

Im Laufe des Herbstes und Winters 1910 kamen auf fast allen Stationen der Anstalt vereinzelte Diphtheriefälle vor, denen sich häufig weitere Erkrankungen anschlossen. Bemerkenswert waren besonders die Morbiditätserscheinungen auf den Stationen für Säuglinge und kleinere Kinder.

Es erkrankten nämlich in der Regel solche Kinder noch an Diphtherie, die bereits an irgend einer anderen Infektion litten, besonders an Grippe. Mit anderen Worten: gesunde Kinder blieben gewöhnlich verschont, während irgendwie geschwächte Kinder krank wurden. Da die Infektionsmöglichkeit für beide Kategorien die gleiche war, so ergibt sich der Schluß, daß beide, zum wenigsten vorübergehend, Bazillenträger wurden; daß die gesunden die Infektion überwanden, die kränklichen Kinder dagegen den günstigen Boden für die Entwicklung der Diphtherie darboten. Es kam ferner vor, daß bei einer plötzlich einsetzenden Grippeepidemie die befallenen Kinder auch noch an Diphtherie erkrankten, obwohl längere Zeit kein Diphtheriefall auf der Abteilung beobachtet worden war, so daß durch das Einsetzen der Grippe erst eine latente Diphtherieverbreitung zur manifesten Epidemie wurde. Auch hier lag die Erklärung nahe, daß es sich um Bazillenträger handelte, denen der Infektionserreger nichts anhaben konnte, solange sie gesund waren; sobald sie aber erkrankten, erlosch auch ihre Widerstandsfähigkeit gegen den solange beherbergten Diphtheriebacillus.

So hatte sich auch bei den Anstaltsärzten die Überzeugung durchgesetzt, daß das Vorhandensein von Bazillenträgern schuld an den dauernd vorkommenden neuen Diphtheriefällen ist. Wir beschlossen deshalb ein gemeinsames, systematisches Vorgehen.

Da die Sanierung der Säuglingshäuser und jener für kleine Kinder als die dringendste erschien, so nahmen wir zuerst diese 5 Stationen vor; die anderen Stationen konnten uns gewissermaßen als Kontrolle dienen und den Einwand entkräften helfen, daß auch ohne unser Zutun die Diphtherie zum Erlöschen gekommen wäre.

Die sämtlichen Insassen der zur Untersuchung bestimmten Stationen wurden auf Keimträgerschaft untersucht, Pflegepersonal und Dienstpersonal einbegriffen. Die Abimpfungen wurden im allgemeinen alle 6 bis 8 Tage vorgenommen, mitunter in kürzeren, mitunter in längeren Intervallen;



es mußte in dieser wie in anderer Beziehung mancherlei Rücksicht auf den sonstigen Anstaltsbetrieb genommen werden.

Ich will im folgenden das Resultat bei den einzelnen Stationen gesondert besprechen, wichtige Einzelheiten hervorheben und dann zum Schluß einen gemeinsamen Überblick geben, dem sich der Bekämpfungsplan anschließen soll.

Säuglingshaus I.

In den der Untersuchung vorhergehenden 3 Monaten sind 2 Diphtheriefälle auf der Station vorgekommen.

Zahl der Kinder: 51.

Zahl der Pflegerinnen: 5.

Zahl der Ammen: 6.

Gesamtzahl der Bazillenträger: 4, darunter keine Amme und keine Pflegerin.

Von den 4 kindlichen Keimträgern hat einer vor kurzer Zeit (3 Wochen), ein anderer vor etwas längerer Zeit eine klinische Diphtherie durchgemacht.

Es ist anzunehmen, daß die Kinder zu früh wieder auf die allgemeine Station verlegt worden sind. Sie waren wohl klinisch gesund, aber bakteriologisch noch infektiös. Alles spricht dafür, daß von ihnen aus der Diphtheriebacillus sich weiter verbreitet hat, glücklicherweise nur in geringem Maßstabe. Während die Untersuchungen im Gange waren, erkrankte noch ein Kind an eitriger Rhinitis mit positivem Bazillenbefunde.

Säuglingshaus II.

In den vorhergehenden 3 Monaten kam 1 Fall von Diphtherie vor.

Zahl der Kinder: 53, 3 Wochen später noch 14.

Zahl der Pflegerinnen: 4.

Zahl der Ammen: 2.

Zahl der Bazillenträger bei der Untersuchung in den ersten 14 Tagen: 1 (und zwar die Oberpflegerin).

Bei der Untersuchung am 17. II. 1911, 18 Tage nach dem Beginn auf dieser Station, wurden plötzlich 7 Bazillenträger gefunden, darunter eine Amme. Dies Resultat schien mir sehr auffällig, und ich stellte sofort Nachforschungen zu seiner Aufklärung an. Da die Oberpflegerin, die als Bazillenträgerin erkannt war, weiter auf der Station pflegte, lag der Verdacht nahe, daß sie die Quelle der weiteren Infektionen geworden sei. Dem widersprachen die Anstaltsärzte und die Pflegerin selbst lebhaft; sie beteuerte, ganz außerordentlich vorsichtig gewesen zu sein, hatte beim Umgehen mit den Kindern stets Pergenoltabletten im Munde gehabt und



überhaupt persönliche Dienstleistungen möglichst eingeschränkt. Auch die Ärzte stellten ihr das Zeugnis äußerster Gewissenhaftigkeit aus; für die Pflegerin sprach ferner, daß bis zu diesem Zeitpunkt kein Bazillenträger außer ihr auf der Station gefunden war, obgleich sie selbst gewiß schon längere Zeit Diphtheriekeime beherbergte.

Weitere Nachforschungen stellten dann folgendes fest: Die neuerdings als Bazillenträgerin erkannte Amme gab nach längerem Befragen an, in der Zeit zwischen den beiden letzten Untersuchungen einige Tage „Halsschmerzen und Belag" gehabt zu haben. Sie habe jedoch nichts davon gesagt, um Unannehmlichkeiten aus dem Wege zu gehen.

Der positive Bazillenbefund macht es wahrscheinlich, daß hier einer jener leicht verlaufenden Diphtheriefälle vorgelegen hat, deren klinische Symptomenschwäche so oft zu einer irrigen Diagnose führt. Die Amme, die ihren Pflichten in der Zwischenzeit ohne weitere Vorsicht nachgegangen war, konnte so leicht den Krankheitskeim weiter verbreiten.

Kinderstation III.

In den letzten 3 Monaten 4 Diphtheriefälle.
Zahl der Kinder: 19.
Zahl der Pflegerinnen: 3.
Dienstmädchen: 1.
Gesamtzahl der Bazillenträger: 10 (darunter das Dienstmädchen).

Keiner der Bazillenträger hat im letzten Jahre Diphtherie gehabt. Im Verlauf der Untersuchungen erkrankte noch 1 Kind an klinisch sicherer Diphtherie.

Der Verdacht erscheint nicht unberechtigt, daß auf dieser Station das infizierte Dienstmädchen zu der starken Verbreitung der Diphtheriebazillen beigetragen hat.

Kinderstation IV.

In den letzten 3 Monaten 4 Diphtheriefälle.
Zahl der Kinder: 18.
Zahl der Pflegerinnen: 5.
Dienstmädchen: 1.

Gesamtzahl der Bazillenträger: 6 (sämtlich Kinder). Von diesen Kindern hat eins etwa 5 Wochen vorher Diphtherie durchgemacht und ist Bazillenträger geblieben. 2 andere Rekonvaleszenten nach Diphtherie erwiesen sich als bazillenfrei. Auch hier spricht die Wahrscheinlichkeit dafür, daß das zum Dauerausscheider gewordene Kind die weitere Verbreitung des Diphtheriebacillus verschuldet hat.

Im Verlaufe der Untersuchungen erkrankten noch 2 Kinder an klinischer Diphtherie.

Säuglingsstation V.

In den letzten 3 Monaten 8 Diphtheriefälle.

Zahl der Kinder: 26.

Zahl der Pflegerinnen: 5.

Zahl der Ammen: 4.

Gesamtzahl der Bazillenträger: 18 (darunter 3 Pflegerinnen und 2 Ammen). 3 Kinder erkrankten noch, während die Untersuchungen im Gange waren.

Von den als Bazillenträgern erkannten Kindern waren 2 erst 8 bzw. 14 Tage nach der Heilung einer klinischen Diphtherie. Sie stellten, ebenso wie die durchseuchten Pflegerinnen und Ammen, dauernd eine reiche und gefährliche Infektionsquelle dar.

Die mitgeteilten Resultate sind in vieler Hinsicht von Interesse. Was zunächst die Zahl der Bazillenträger betrifft, so fanden wir einen weitgehenden Parallelismus zwischen der Zahl der voraufgegangenen Erkrankungen auf der Station und der Zahl der ermittelten Infektionsträger. Ordnet man die 5 Stationen nach der Zahl der vorher beobachteten Diphtheriefälle, so ergibt sich folgende Korrelation zwischen dieser Zahl und der Anzahl der Bazillenträger:

Säuglingshaus	II	1	Diphtheriefall	1	Bazillenträger[1]
„	I	2	„ fälle	4	„
Kinderstation	IV	4	„ „	6	„
„	III	4	„ „	10	„ [2]
„	V	8	„ „	18	„

Je höher also die Zahl der vorausgegangenen Erkrankungen war, um so höher wurde auch die Zahl der gefundenen Bazillenträger; eine Tatsache, die gegen die früher viel verbreitete und von v. **Behrings**[3] Autorität gestützte Anschauung spricht, daß die Diphtheriebazillen allgemein, ubiquitär verbreitet seien, und der Befund von Bazillenträgern daher epidemiologisch keine Bedeutung besäße.

Über den Ursprung der Infektionen auf den einzelnen Stationen haben wir schon im einzelnen gesprochen. Wenn sich der Beweis der Infektionsquelle auch nicht mit mathematischer Gewißheit führen läßt, so ist die Wahrscheinlichkeit unserer Deutungen doch eine recht große.

---

[1] Von der oben erwähnten, nachträglichen Infektion durch die Amme muß hier abgesehen werden.

[2] Vielleicht erklärt sich die relativ hohe Zahl hier durch die Infektion der Bedienerin, während auf Station IV nur Kinder infiziert waren.

[3] Diphtherie. Berlin 1901. *Bibliothek* von Coler. Bd. II.



Meistens handelte es sich um Kinder, die zu früh nach der klinisch geheilten Diphtherie wieder aufgenommen wurden, aber noch Bazillenträger geblieben waren. Daß auch sehr leicht verlaufende Infektionen wieder von Bedeutung waren, lehrt die Beobachtung auf Säuglingshaus II, wo erst die bakteriologische Untersuchung nachträglich eine vorausgegangene Halsentzündung als Diphtherie und Keimquelle erkennen ließ.

Und schließlich sei noch die Beteiligung des Pflegepersonals an der Bazillenträgerschaft erwähnt: von den gesamten 46 Bazillenträgern waren 8 Pflegerinnen oder Ammen bzw. Dienstmädchen.

Von Interesse sind ferner noch die Kinder, die während des Verlaufs der Untersuchungen erkrankten. Es handelt sich im ganzen um 7 Personen; von diesen waren 3 bei den vorhergehenden bakteriologischen Untersuchungen als Bazillenträger gekennzeichnet.

Name	Vorhergehender Befund	Tag der Erkrankung
A. F.	15. XII. — 23. XII. +	23. XII. nachmittags
Kn.	15. XII. +	20. XII.
S.	15. XII. +	17. XII.

Die anderen 4 später erkrankten Kinder waren 1 bzw. 2mal mit negativem Resultate untersucht worden.

Wir hatten also festgestellt, daß der Diphtheriekeim im Krankenhause ganz erhebliche Ausbreitung genommen hatte, daß er auf einigen besonders durchseuchten Stationen sogar 50 bis 70 Prozent der Belegschaft infiziert hatte, und daß er auch unter dem Pflege- und Wartepersonal beträchtlich verbreitet war. Diese Tatsache erklärt zur Genüge, weshalb die Erkrankungen an Diphtherie auf den Stationen nicht aufhörten, weshalb auch interkurrente Erkrankungen wie Grippe u. ä. so oft eine Diphtherie im Gefolge hatten.

Es galt nun, hier einzugreifen und die Infektionsquellen so weit wie möglich zu verstopfen. Aus den als Keimträger erkannten Kindern wurden daher durch planmäßige Verlegungen neue Stationen gebildet, während die diphtheriefreien Kinder ihrerseits zu besonderen Abteilungen zusammengelegt wurden. Und da das Pflegepersonal ja auch zum Teil infiziert war, so konnte es ebenfalls, den Stationen entsprechend, verteilt werden. Gleichzeitig wurden in größerem Maßstabe Schutzimpfungen vorgenommen, jedoch nicht gleichmäßig auf allen Abteilungen, so daß wir hier wiederum Gelegenheit hatten, den Erfolg unserer Maßnahmen unter den verschiedensten Bedingungen zu kontrollieren.

Es wurden immunisiert:

auf Säuglingshaus I: niemand
„ „ II: „
„ Kinderstation III: Gesunde und Bazillenträger
„ „ IV: niemand
„ Säuglingsstat. V: die Bazillenträger.

Nach der Trennung der infizierten Kinder von den gesunden bestand unser weiteres Vorgehen darin, die Bazillenträgerstationen allmählich wieder zu evakuieren, und zwar so, daß wir in regelmäßigen Untersuchungen diejenigen Kinder feststellten, die ihre Bazillen im Rachen oder in der Nase verloren hatten. Diese Kinder wurden dann, gewöhnlich nach dreimaligem negativen Untersuchungsbefunde nach und nach wieder auf die infektionsfreien Abteilungen verlegt. Außerdem aber wird jedes neu aufgenommene Kind dreimal bakteriologisch untersucht, ehe es einer Abteilung überwiesen wird. Der ganze Effekt unserer Maßnahmen könnte ja illusorisch werden, wenn Einschleppungen von außen zum neuen Auftreten von Erkrankungen und Bazillenträgern führen würden. In der Tat haben wir bei den letzten 37 Neuaufnahmen, die zum größten Teil aus anderen Krankenanstalten herstammten, 7 mal Diphtheriebazillen nachweisen können. Eine deutliche Mahnung, wie notwendig diese Schutzmaßnahmen gegen Einschleppung von außen sind.

Und der Erfolg dieser mühseligen Arbeit? Lohnt er die aufgewendete Zeit und Energie? — Wir freuen uns, diese Frage bejahen zu können. Den Beweis liefert die Diphtheriestatistik des Krankenhauses. In der Zeit vom 1. Januar bis 27. Mai 1911 kamen auf den sanierten Stationen (ich rechne dazu seuchenfreie und Bazillenträgerabteilungen), abgesehen von 3 Fällen noch im Verlauf der Untersuchung (s. oben), nur 2 Diphtheriefälle vor; und diese Fälle betrafen beide später aufgenommene Kinder, die bei der Aufnahme aus nicht mehr feststellbaren Gründen nicht bakteriologisch untersucht worden waren.[1]

Auf den nicht sanierten Stationen und in den gesunden Häusern der Anstalt dagegen kamen in der gleichen Zeit 45 Erkrankungen an Diphtherie zur klinischen und bakteriologischen Beobachtung.

Diese Zahlen sind so beweisend, daß eine weitere Diskussion ihrer Bedeutung sich erübrigt.

[1] Am 28. Mai kamen drei Fälle im Anschluß an Masern vor (s. weiter unten); weitere Fälle kamen bis Ende Juli nicht zur Beobachtung.



Es hat sich also gezeigt, daß die systematische Aussonderung der Bazillenträger genügt, um selbst eine festgenistete Diphtherieendemie zum Weichen zu bringen, ohne daß weitere Maßregeln erforderlich wurden als die bakteriologische Kontrolle und allgemeine hygienische Vorsichtsmaßnahmen des Pflegepersonals. Die Trennung der Infizierten von den Diphtheriefreien war das Wesentliche; die Serumschutzimpfung, die zum Teil angewandt wurde, ist nicht unbedingt notwendig. Das Beispiel der zahlreichen nicht immunisierten Kinder (gesunde und Bazillenträger) lehrt, daß man auch ohne die Serumprophylaxe zum Ziele kommen kann. Damit soll nun aber die Diphtherieschutzimpfung keineswegs bei der Seuchenbekämpfung ausgeschaltet werden; Fälle, wie der oben geschilderte, wo wir selbst von ihr Gebrauch machten, zeigen, daß sie in manchen Situationen eine wertvolle, ja unentbehrliche Waffe darstellt.[1] Nur die generelle Verwendung bei der Diphtheriebekämpfung scheint uns nach unseren Erfahrungen nicht notwendig zu sein.

Beachtenswert ist ferner, daß auch auf den neugebildeten Bazillenträgerstationen Diphtherieerkrankungen nicht zur Beobachtung kamen, trotzdem manche Kinder sehr lange Keimträger blieben.

Wie sich dagegen die Verhältnisse gestalten, wenn man die Bazillenträger von den anderen Kindern nicht trennt, lehrt das Beispiel der Scharlachstation, das gleichsam als Kontrollfall bewertet werden kann. Im Januar war auf der Station ein Diphtheriefall vorgekommen; die im Anschluß hieran vorgenommene Untersuchung auf Bazillenträger ergab einen Keimträger, der sodann bald entlassen wurde, ohne daß er von den anderen Kindern in der Zwischenzeit getrennt worden war. Alle von draußen neu auf die Station kommenden Kinder wurden der Sicherheit halber immunisiert. Bis Anfang März ging alles gut; dann erkrankten 3 Kinder, die neu aufgenommen waren, 14 Tage nach der Immunisierung an Diphtherie. Sie wurden verlegt, die erneute Untersuchung auf Bazillenträger in der Umgebung ergab 2 mit Diphtheriekeimen Behaftete. Eine Absonderung dieser Kinder ließ sich nicht durchführen, und der Effekt war, daß im Laufe der Monate März und April noch 5 Kinder mit Diphtheriebazillen infiziert wurden. Diphtherieerkrankungen sind bis zur Auflösung der Station (Mai) glücklicherweise nicht vorgekommen. Jedenfalls aber ersieht man aus diesem Beispiel, wie eine einzige Keimquelle imstande ist, den Infektionsstoff weiter zu verbreiten und so eine ganze Krankenabteilung allmählich zu durchseuchen.

[1] Anmerkung bei der Korrektur: Erst neuerdings hat sich uns die Serumschutzimpfung wieder als außerordentlich segensreich bewiesen. Ohne sie wären wir in einem stark verseuchten Erziehungsheime kaum zum Ziele gekommen.



Ein anderes lehrreiches Beispiel bietet der folgende Fall: infolge des vermehrten Auftretens von Keuchhusten wurde es notwendig, 2 Bazillenträger auf eine sonst infektionsfreie Station zu verlegen; im Anfang wurden noch gewisse Vorsichtsmaßregeln innegehalten, schließlich aber wurde der Verkehr der Kinder untereinander wieder ein engerer. Fast 2 Monate lang kam nichts vor, dann aber brach in demselben Saal eine Masernepidemie aus; kurz hintereinander erkrankten 8 Kinder, 3 davon wurden während des Fiebers noch von Diphtherie befallen.[1] Hier liegt offenbar ein ähnlicher Zusammenhang vor, wie er auch früher bei der Grippe beobachtet worden war. Höchstwahrscheinlich waren diese Kinder in der Zwischenzeit zu Keimträgern geworden; zur Erkrankung an Diphtherie aber kam es erst, als der Ausbruch der Masern die Widerstandsfähigkeit der Kinder herabgesetzt hatte. Auch hier hat sich also das Zusammenlassen der Bazillenträger mit nicht infizierten Kindern als verhängnisvoll erwiesen. Die Absonderung aller als Keimträger erkannten Kinder ist somit eine dringende Notwendigkeit. Führt man sie aber gewissenhaft und systematisch durch, so lehren auch unsere Beobachtungen, denen eine große Überzeugungskraft infolge aller Begleitumstände innewohnt, daß der Erfolg nicht ausbleibt, daß vielmehr die Aussonderung der Bazillenträger auch die Ausrottung der Epidemien zur Folge hat. Notwendig ist allerdings, daß man sich gegen Neueinschleppung von außen schützt und deshalb alle Neuaufnahmen bakteriologisch kontrolliert, sowie besonders darauf achtet, daß diphtheriekrank gewesene Kinder nicht eher auf die allgemeinen Stationen gelassen werden, als bis sie auch bakteriologisch genesen sind. Besondere Aufmerksamkeit verdient sodann noch das Pflege- und Wartepersonal, das durch seine berufliche Tätigkeit der Infektion stark ausgesetzt ist; unter den Ärzten, die wir gleichfalls untersuchten, konnten dagegen Bazillenträger nie gefunden werden.

Das Verhalten der als Keimträger festgestellten Personen ergeben die folgenden Tabellen auf Grund der regelmäßigen bakteriologischen Kontrolle. Wir haben in diesen Tabellen einmal die eruierten Bazillenträger vereinigt, soweit sie unserer Beaufsichtigung noch zugänglich waren (ein Teil von ihnen mußte vorher entlassen werden, einige sind gestorben), ferner Personen, die mit diesen Kindern bzw. den infizierten Pflegerinnen irgendwie in Berührung gekommen waren (das ließ sich infolge andersartiger Epidemien nicht immer völlig vermeiden), und schließlich Rekonvaleszenten nach klinischer Diphtherieerkrankung. Ein Teil der Patienten konnte nicht bis zum dreimaligen negativen Untersuchungsbefunde beobachtet werden; auch hier machten Entlassungen und Todesfälle viele Untersuchungen unmöglich.

[1] Siehe Anmerkung S. 61.



Bemerkenswert ist übrigens, daß gerade eine Anzahl von den Kindern, die ihre Bazillen gar nicht verlieren wollten, an interkurrenten Erkrankungen (Ernährungsstörungen, Pneumonie) zugrunde gingen. Es handelte sich hier nach Angabe der behandelnden Ärzte von vornherein um schwächliche, sehr debile Kinder; vielleicht besteht auch hier ein Zusammenhang zwischen allgemeiner Konstitution und Entstehung bzw. Dauer der Keimträgerschaft. Von den in den Tabellen aufgeführten Kindern gehören hierher aus Tabelle b) L. H., und c) W. Tr. und K. K.

a) **Bazillenträger** (nicht erkrankt gewesen).

N = Nasensekret.

Name	Datum der Untersuchung	Als Keimträger erkannt	Resultat
H. F.	24. II., 28. II., 17. III.	23. XII. 10.	+ + −
H. H.	24. II., 28. II., 14. III., 28. III.	23. XII. 10.	− − − −
L. M.	24. II.	30. XII. 10.	−
W. M.	24. II., 28. II.	28. I. 11.	− −
E. P.	24. II., 31. III., 4. IV., 8. IV.	20. XII. 10.	+ − − −
G. Sch.	24. II., 28. II., 3. III.	15. XII. 10.	− − −
M. R.	3. III, 7. III., 31. III., 4. IV., 8. IV., 16. IV.	23. XII. 10.	− − + − − −
H. Z.	7. II., 10. II., 21. II., 3. III., 10. III., 17. III., 28. III.	3. II. 11.	− + − + − − −
K. St.	21. II., 28. II., 10. III.	17. II. 11.	− − −
F. L.	21. II., 3. III., 10. III.	17. II. 11.	− − −
E. K.	24. II.	17. II. 11.	−
G. K.	24. II.	17. II. 11.	−
E. E.	24. II., 3. III., 10. III.	17. II. 11.	− − −
W. K.	3. III., 7. III., 10. III.	23. XII. 10.	− − −
M. L.	3. III., 7. III., 10. III., 19. V. 23. V., 27. V.	27. XII. 10.	− − + − − −
E. G.	3. III., 10. III.	20. XII. 10.	− −
H. M.	3. III., 31. III., 4. IV., 8. IV.	30. XII. 10.	+ − − −
We.	7. III., 14. III., 24. III., 4. IV.	20. XII. 10.	+ − − −
F. Sch.	7. III., 31. III., 4. IV., 8. IV.	23. XII. 10.	+ − − −
W. R.	7. III., 17. III., 28. III.	20. XII. 10.	+ − −
H.	7. III., 10. III., 14. III., 24. III.	20. XII. 10.	− − − −
Gr.	7. III.	15. XII. 10.	−
S.	7. III., 10. III.	15. XII. 10.	− +
L. S.	7. III.	20. XII. 10.	−
Z.	7. III., 10. III., 14. III.	20. XII. 10.	− − −
H. S.	27. III.	20. XII. 10.	−

Aus dieser und Tabellen b) und c) geht hervor, wie verschieden lange die Bazillen bei den einzelnen Individuen persistieren. Zu beachten ist, daß nur die Erwachsenen antiseptische Gurgelungen und ähnliches vor-



b) **Ansteckungsverdächtige** (mit Kranken oder Bazillenträgern irgendwie in Berührung gekommen).

Name	Datum der Untersuchung	Resultate
U. B.	28. II., 3. III.	— +
M. D.	28. II., 3. III., 31. III., 4. IV., 8. IV.	— + — — —
F. F.	24. II., 28. II., 3. III.	— — —
K. F.	24. II., 28. II.	— —
L. H.	28. II., 3. III., 7. III., 31. III., 22. IV., 27. IV., 28. IV., 19. V., 25. V.	— — + + — — + — +
G. H.	24. II.	+
M. M.	28. II., 3. III., 7. III.	— — —
B. M.	28. II., 3. III., 31. III., 4. IV., 8. IV., 10. VI., 13. VI.	+ — — — —N. — —
L. R.	24. II., 14. III., 24. III., 31. III.	— — —N. —
E. S.	24. II., 28. II., 3. III.	— — —
L. Sch.	24. II., 28. II., 3. III.	— — —
A. T.	24. II., 28. II., 3. III., 22. IV., 29. IV., 19. V.	— — — — — —
H. W.	24. II., 28. II., 3. III.	— — —
B. W.	28. II., 3. III., 7. III.	— — —
D. W.	28. II., 3. III., 7. III.	— — —
A. K.	3. III., 7. III., 10. III.	— — —
A.	7. III., 10. III., 14. III., 21. III., 24. III.	— — — — —
G. B.	7. III., 10. III.	— —
E.	7. III., 10. III., 14. III.	— — —
F.	7. III., 14. III., 4. IV., 12. IV.	— + — —
A. W.	7. III.	—
H.	10. III., 4. IV., 12. IV., 27. IV., 19. V., 23. V., 2. VI., 23. VI., 30. VI., 11. VII.	+ — — + — — + — — —
An.	10. III., 4. IV., 12. IV., 27. IV., 19. V. 23. V., 2. VI., 16. VI.	+ + + + + — —N. —
E. Sch.	10. III., 4. IV., 12. IV., 27. IV.	+ — — —
R.	10. III., 14. III.	— —
H. Sch.	10. III., 17. III.	— —
So.	10. III., 14. III., 21. III.	— — —
E. St.	17. III.	—
M. H.	4. IV.	—

nahmen, während die meist recht kleinen Kinder und Säuglinge unbehandelt blieben; die Säuglinge schon deswegen, weil hier jede örtliche Maßnahme im Rachenraum durch erschwerte oder gar zeitweilig verweigerte Nahrungsaufnahme beantwortet wurde. Eine Gefahr, der sich die Anstaltsärzte natürlich nicht aussetzen wollten.

Vergleicht man aber die Zahlenwerte für die Dauer der Bazillenausscheidung mit den weiter oben angegebenen Zeitäumen, so erkennt man, daß ein irgendwie merkbarer Einfluß lokaler Behandlung nicht besteht. Die Frage nach einer brauchbaren Methode therapeutischer Bekämpfung



c) Rekonvaleszenten nach Diphtherie.

Name	Datum der Untersuchung	Datum der Erkrankung	Resultate
W. C.	24. II., 28. II., 7. III., 21. III. 22. IV., 27. IV., 6. V.	8. XII. 10.	— — — +N. — — —
E. D.	24. II., 28. II., 3. III., 1. IV., 12. IV.	7. I. 11.	— — + — — —
K. G.	24. II., 7. III., 17. III., 24. III.	6. I. 11.	+ — — —
W. H.	28. II., 3. III., 31. III., 4. IV., 8. IV.	20. XII. 10.	— + — — —
F. K.	24. II., 28. II., 7. III., 17. III., 28. III., 4. IV.	2. I. 11.	— — + — — —
E. M.	24. II.	22. I. 11.	—
H. M.	28. II., 3. III.	6. I. 11.	— +
C. R.	24. II.	31. I. 11.	—
W. R.	24. II., 10. III., 14. III., 24. III.,	18. I. 11.	— — — —
M. Sch.	24. II., 7. III., 17. III., 28. III. 4. IV., 8. IV.	30. XI. 10.	+ + + — — —
W. T.	24. II., 28. II., 27. III.	3. II. 11.	— — —
W. Tr.	28. II., 3. III., 17. III., 31. III., 22. IV., 27. IV., 10. V., 19. V., 23. V., 30. V.	10. X. 10.	— — + — + — + — + +
W.	24. II., 28. II., 3. III., 7. III.	17. I. 11.	— — + —
Wr.	24. II., 28. III., 27. IV., 29. IV., 19. V., 2. VI.	14. I. 11.	+ + — + +N. +N.
J. B.	3. III., 7. III., 10. III.	28. I. 11.	— — —
K. K.	3. III., 7. III., 28. III., 27. IV., 29. IV., 6. V., 19. V., 2. VI., 13. VI. 16. VI.	14. II. 11.	— + + — — +N. +N. —N. — +N.
R. S.	24. II., 17. III., 27. IV., 19. V., 23. V., 28. V.	17. XII. 10.	+ — + — — —N.
P. W.	7. III., 17. III., 28. III.	25. II. 11.	+ — —
W. D.	7. III.	5. I. 11.	—
M.	7. III., 10. III., 14. III.	16. XII. 10.	— — —
P. R.	10. III., 23. III., 27. V., 30. V.	19. II. 11.	— — — —
Schl.	10. III., 23. V.	20. II. 11.	— —
E. Z.	10. III., 17. III., 28. III. 19. V.	28. II. 11.	— — — —
P. M.	17. III., 28. III., 27. IV., 19. V., 23. V., 27. V.	24. II. 11.	— + + — — —
H. F.	28. III., 4. IV., 8. IV.	22. III. 11.	—N. — —
H. G.	4. IV., 22. IV.	18. III. 11.	— —
K. L.	4. IV.	14. III. 11.	—
W. W.	4. IV.	16. III. 11.	—
E. C.	4. IV., 8. IV.	8. III. 11.	— —
M. W.	16. VI., 23. VI., 30. VI., 2. VII., 24. VII., 18. VIII., 25. VIII.	6. V. 11.	— — — + — — —
H. K.	4. IV.	9. III. 11.	—
E. M.	29. IV.	15. IV. 11.	—
K.	19. V., 9. VI., 13. VI., 16. VI., 23. VI., 30. VI.	6. V. 11.	+ + — — — —
J.	19. V., 2. VI., 9. VI., 30. VI., 11. VII.	6. V. 11.	+N. —N. — — —N.
Br.	19. V., 2. VI., 23. VI., 30. VI., 21. VII., 18. VIII., 5. IX., 19. IX., 26. IX.	6. V. 11.	+N. +N. — — +N. +N. +N. +N. — —
S.	19. V., 23. V., 27. V., 21. VII.	8. V. 11.	— — — +N.

der Keimträgerschaft bleibt bei Diphtherie nach wie vor offen, sowohl beim Säugling wie beim Erwachsenen.

Von den Bazillenträgern, die niemals krank gewesen sind [Tabelle a) und b)], haben manche die Diphtheriebazillen nur ganz kurze Zeit beherbergt; bei einer ganzen Reihe von Personen wurden sie überhaupt nur ein einziges Mal gefunden; andere wieder beherbergten sie nur wenige Tage (4 bis 8); bei wieder anderen waren sie längere Zeit nachweisbar (60 bis 100 Tage), ohne daß hier in allen Fällen bis zum dauernden Verschwinden der Bazillen beobachtet werden konnte.

Von den Diphtherierekonvaleszenten gilt das gleiche; manche Kinder verloren sehr schnell nach der Erkrankung ihre Diphtheriebazillen, in einem Fall dauerte es noch nicht 6 Tage, in einem zweiten weniger als 10 Tage, in 2 weiteren Fällen weniger als 14 Tage; dann kamen wieder andere, die nach 3 Wochen negativen Bazillenbefund zeigten, und schließlich wiederum solche, die ihre Keime sehr lange behielten (50 bis über 100 Tage). Bei einem Kinde konnten wir die Bazillen noch 205 Tage nach der Erkrankung nachweisen, ohne daß damit schon das Ende der Ausscheidungsdauer erreicht wäre. In einigen Fällen haben wir die Diphtheriebazillen nach mehrmonatiger Ausscheidungsdauer (3 bis 5 Monate) reingezüchtet und im Tierversuch auf ihre Virulenz geprüft. In allen Fällen zeigten sich die Reinkulturen für Meerschweinchen virulent; sie führten in wenigen Tagen zum Tode der Versuchstiere unter dem typischen anatomischen Symptomenkomplex. Wenn auch der Schluß von der Tiervirulenz auf die für den Menschen nicht ohne weiteres gezogen werden darf, so lehren doch diese Beobachtungen, daß erhebliche Veränderungen der Pathogenität, wie dies z. B. Lippmann[1] annimmt, nicht vorgekommen sind. Auch Sommerfeld[2] hält nach seinen umfangreichen Versuchen an der Anschauung fest, daß die Virulenz der Bazillen auch bei langem Verweilen im Tierkörper gewöhnlich erhalten bleibt.

Es bestätigen also auch diese Befunde, daß der Verbleib von Diphtheriebazillen im infizierten Organismus ein außerordentlich verschiedenartiger ist; *sie weisen somit gebieterisch auf die Notwendigkeit hin, nach abgelaufenen Diphtherieerkrankungen die bakteriologische Schlußuntersuchung obligatorisch zu machen.*

Aus den Tabellen geht ferner hervor, daß es in manchen Fällen gelingt, noch im Nasensekret Diphtheriebazillen nachzuweisen, wenn sie aus dem Rachen scheinbar verschwunden sind. Es handelt sich in solchen Fällen durchaus nicht immer um Nasendiphtherie, sondern gewöhnlich um abgelaufene Rachendiphtherie.

[1] A. a. O. [2] Private Mitteilung.

5*



Die Möglichkeit, daß gleichzeitig eine Nasendiphtherie bestanden hat, ist allerdings nicht von der Hand zu weisen, zumal leichte Rhinitiden mit positivem Bazillenbefund nach unseren Erfahrungen bei Säuglingen recht häufig sind. Bemerkenswert sind noch die beiden Fälle M. W. und S. aus Tabelle c). Beides sind Kinder, die eine Diphtherie durchgemacht hatten und dreimal mit negativem Erfolg untersucht worden waren. Beide hatten nach einem Intervall von 1 bzw. 2 Monaten wieder Diphtheriebazillen. M. W., der auf der Diphtheriestation verblieben war, fieberte leicht um diese Zeit. Es ist nicht von der Hand zu weisen, daß er sich auf der Station von neuem angesteckt hat. S. dagegen war wegen Masernerkrankung auf die (diphtheriefreie) Masernstation verlegt worden und bekam hier eine ausgesprochene Rhinitis mit positivem Befunde. Ob es sich hier um eine Autoinfektion mit noch irgendwo im Nasenrachenraum versteckt gewesenen Diphtheriekeimen handelt, oder ob eine Neuinfektion von außen vorlag, konnte nicht mit Sicherheit entschieden werden.

Damit will ich unsere Kasuistik, die inzwischen immer weiter wächst, vorläufig beschließen und nur nochmals betonen, daß unsere Ergebnisse aus zwei Gründen ein besonderes Interesse verdienen, einmal wegen der Vielseitigkeit des beobachteten Materials und zweitens, weil es uns möglich war, praktische Seuchenbekämpfung zu treiben unter Bedingungen, die an Übersichtlichkeit denen eines Laboratoriumsexperimentes kaum nachstehen. Unsere Beobachtungen erhärten aufs neue die überaus große Bedeutung gesunder Bazillenträger für die epidemiologische Verbreitung der Diphtherie und sie beweisen zugleich, daß die Aufspürung und Ausmerzung dieser Keimträger ein sicheres Mittel für die Bekämpfung der epidemischen Diphtherie darstellt; ein Mittel, das sich in Schulen und Erziehungsanstalten bewährt hat, und das in Krankenanstalten auch unter recht schweren Bedingungen nicht versagt.



[Aus der bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.]

Über die Resorption des Diphtherieantitoxins.

Von

J. Morgenroth, Berlin. und **Richard Levy,** Breslau.

Auf Grund der klinischen Erfahrungen und einer auf diese gestützten Statistik ist die ausschlaggebende Bedeutung einer möglichst frühzeitigen Serumbehandlung der Diphtherie anerkannt. Lange Zeit herrschte die Überzeugung, daß hier das Mögliche getan ist, wenn so früh als angängig die übliche subkutane Injektion einer sogenannten Heildosis des Diphtherieantitoxins — mehrere 1000 Immunitätseinheiten — erfolgt.

Diese für die Praxis geltenden Anschauungen stützen sich auf die theoretischen Vorstellungen über die Einwirkung des Antitoxins auf das Diphtherietoxin, wie sie vor allem den grundlegenden Untersuchungen Ehrlichs zu verdanken waren. In erster Linie maßgebend für die Ausgestaltung dieser Anschauungen war die Ansicht Ehrlichs[1], daß Diphtheriegift und Antitoxin sich chemisch zu einer physiologisch indifferenten Verbindung vereinigen, und daß sich diese Vereinigung auf Grund einer maximalen Verwandtschaft zwischen Toxin und Antitoxin mit unmeßbarer Schnelligkeit vollzieht.

Die Situation in einem von Diphtherie befallenen menschlichen Organismus mußte man sich nun folgendermaßen vorstellen: Die in den diphtherischen Membranen rasch wuchernden Diphtheriebazillen geben ihr lösliches Toxin ab, welches kontinuierlich resorbiert und in die Blutbahn übergeführt wird. Diese verläßt das Toxin wieder sehr rasch, um in den

[1] Siehe Ehrlich, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1903. Nr. 35—37.

giftempfindlichen Geweben bzw. an deren Rezeptoren durch seine haptophore Gruppe verankert zu werden, womit die unheilvolle Wirkung der toxophoren Gruppe vorbereitet wird. Befindet sich nun Antitoxin in der Blutbahn, und zwar nur so viel, als gerade zur Neutralisation der jeweils resorbierten Toxinmenge ausreicht, so genügt diese Antitoxinmenge vollständig, um vermöge der supponierten maximalen Verwandtschaft das Toxin ganz und gar mit Beschlag zu belegen und so jede Schädigung durch dasselbe zu verhindern.

Anders liegen nach dieser Anschauung die Verhältnisse, wenn das Antitoxin erst in die Blutbahn gelangt, nachdem ein größerer oder geringerer Anteil des Toxins diese bereits verlassen hat und von den giftempfindlichen Geweben aufgenommen ist. Dann wird von dem Antitoxin eine weit höhere Wirkung verlangt, nämlich eine Heilwirkung im eigentlichen Sinne, durch welche das bereits von den Geweben verankerte Toxin von diesen wieder losgerissen und an das Antitoxin verankert wird. Daß hierzu unverhältnismäßig große Antitoxinmengen notwendig sind, weiß man seit den bekannten Versuchen von Dönitz.

Die hier skizzierten Wirkungen des Antitoxins, die im Einzelfall wohl meist beide in Frage kommen, sollen nun kurz getrennt betrachtet werden.

Die erst beschriebene Antitoxinwirkung, die man im strengen Sinn als eine prophylaktische bezeichnen muß, erschien unter der Voraussetzung der momentanen Bindung außerordentlich einfach funktionierend. Das Antitoxin bildete gleichsam eine unübersteigliche Barrière für das in die Blutbahn gelangende Toxin, und lediglich von der Höhe dieser Barrière, d. h. von der im Kreislauf befindlichen Antitoxinmenge, hing die Sicherheit des Schutzes ab. Es war für das Verständnis dieser Vorgänge von einschneidender Bedeutung, als gezeigt wurde, daß — um das gewählte Bild beizubehalten — diese Barrière von dem Toxin umgangen werden kann. Es erwies sich nämlich, daß dem Diphtherieantitoxin und -toxin die Ausnahmestellung, die ihm Ehrlich anwies, nicht zukommt oder vielmehr, daß sie nur in dem einzigen bis dahin gründlich untersuchten Fall, nämlich bei der subkutanen Injektion von Toxin-Antitoxingemischen bei Meerschweinchen besteht. Treffen dagegen Toxin und Antitoxin in vitro oder in der Blutbahn zusammen, so gelten in Wirklichkeit Bindungsgesetze, wie sie schon Ehrlich für die Beziehungen zwischen anderen Toxinen und Antitoxinen (Tetanus) angenommen hatte. Die Bindung findet langsam statt und dürfte selbst in ziemlich konzentrierten Lösungen von Toxin und Antitoxin bei mittleren Temperaturen erst nach einem Zeitraum von 24 Stunden abgeschlossen sein.



Aus dieser Tatsache ergibt sich, daß für die prophylaktische Wirkung des Diphtherieheilserums eine andere Betrachtungsweise als die bis dahin übliche Platz greifen muß. Trotzdem in der Blutbahn mehr oder weniger Antitoxin vorhanden ist, besteht für das resorbierte Toxin eine gewisse Zeit hindurch die Möglichkeit, diese zu verlassen und an die Gewebe zu gelangen. Es kommt nicht darauf an, daß gerade diejenige Menge Antitoxin vorhanden ist, welche zur Bindung der resorbierten Toxinmenge ausreicht, sondern der springende Punkt ist der, *daß die möglichst rasche Neutralisation des in die Blutbahn gelangenden Toxins garantiert wird, und daß nur eine Mindestmenge von Toxin die Blutbahn verlassen kann.* Es liegt also de facto ein Wettstreit um das Toxin vor, an welchem einerseits das Antitoxin, andererseits die giftempfindlichen Zellen beteiligt sind. Je konzentrierter das Antitoxin im Blutplasma gelöst ist, desto rascher wird eine gegebene Toxinmenge gebunden, mit andern Worten, desto vollständiger ist deren Bindung innerhalb einer gegebenen Zeit. So bricht sich auf Grund des Laboratoriumsversuches die Erkenntnis Bahn, daß es nicht nur darauf ankommt, möglichst bald Antitoxin in den Kreislauf einzuführen, sondern daß von ausschlaggebender Bedeutung ist, in möglichst kurzer Zeit die möglichst hohe Konzentration des Antitoxins in der Blutbahn zu erzielen. Als Konsequenz aus seinen Versuchen über die Bindung von Antitoxin und Toxin hat schon vor Jahren der eine von uns[1] die Forderung aufgestellt, daß auch unter dem Gesichtspunkte dieser im eigentlichen Sinne prophylaktischen Wirkung möglichst große Antitoxinmengen eingeführt werden müssen.

Im Anschluß an unsere gemeinsamen Versuche, die im folgenden ausführlich mitgeteilt werden sollen, haben wir diese Forderung von neuem urgiert[2,3] und weitere praktische Konsequenzen aus derselben gezogen.

Was die Heilwirkung im engeren Sinne betrifft, so decken sich die praktischen Konsequenzen mit dem eben Entwickelten. Hier zeigte schon das Experiment, daß es auf möglichst hohe Antitoxindosen ankommt, die um so mehr noch eine Wirkung ausüben können, je früher sie im Kreislauf erscheinen. Diese experimentell gefundene Tatsache fand ihren theoretischen Ausdruck in der Anschauung, daß die Bindung zwischen Toxin und den Rezeptoren giftempfindlicher Gewebe sich in

[1] Morgenroth, Untersuchungen über die Bindung von Diphtherietoxin und -antitoxin. *Diese Zeitschrift.* 1904. Bd. XLVIII. (Anm. 3, S. 220.)

[2] Derselbe, Ges. der Charité-Ärzte. *Berliner klin. Wochenschr.* 1907. S. 1394. — *Therapeutische Monatshefte.* 1909. H. 1. — Diskussionsbemerkung. *Berl. klin. Wochenschrift.* 1909. S. 1185.

[3] Levy, Diskussionsbemerkung. *Berl. klin. Wochenschrift.* 1910. Nr. 51.

kurzer Zeit immer mehr befestige und dann zu ihrer Lösung immer größerer Antitoxinmengen bedürfe, bis schließlich auch die größten Antitoxinquantitäten nichts mehr ausrichten. Welche Rolle aber auch hierbei die rascheste Einführung großer Antitoxinmengen in die Blutbahn spielt, das zeigen die Versuche von Berghaus[1] aus Ehrlichs Laboratorium. Durch direkte Injektion des Antitoxins in das Herz[2] der vergifteten Meerschweinchen ließ sich die notwendige Heildosis auf den 500. Teil der subkutan erforderlichen Antitoxineinheiten verringern. Es ist bemerkenswert, daß gleichzeitig mit der Entwicklung der theoretischen Auffassung dieser Vorgänge auch die Empirie zu ähnlichen Forderungen kam, indem vor allem das Bedürfnis empfunden wurde, in den schwersten Fällen, die immer noch eine beklagenswert hohe Mortalität liefern, noch eine Antitoxinwirkung zu erzielen. So kam man dazu, die intravenöse Injektion sehr hoher Antitoxindosen zu empfehlen. Wir werden später noch auf diese Bestrebungen zurückkommen.

Einer dringenden Revision bedurfte aber, von den neu gewonnenen Prinzipien ausgehend, die bisher weitaus prävalierende Anwendungsweise des Diphtherieheilserums auf dem Wege der subkutanen Injektion. Wir sind gewohnt, bei der subkutanen Injektion von Alkaloiden, besonders von Morphium, die Wirkung nach kürzester Zeit auftreten zu sehen und leiten hieraus ganz allgemein die Vorstellung ab, daß die Resorption wässeriger Lösungen vom Unterhautbindegewebe aus mit sehr großer Schnelligkeit erfolgt.

Wie mangelhaft die Resorption kristalloider Lösungen vom Subkutangewebe aus vor sich geht, und wieviel günstiger die Bedingungen im Muskelgewebe dafür sind, bewiesen als erste Meltzer und Auer.[3] Sie konnten durch Versuche mit Adrenalin, Curare, Fluoreszin und Morphium feststellen, daß die Wirkung der intramuskulären Injektion der Injektion in die Blutbahn sehr nahe steht, sich der subkutanen jedenfalls weit überlegen erweist. So wirkt eine Dosis Curare, die subkutan für das Versuchstier absolut harmlos ist, bei intramuskulärer Applikation hochgradig giftig. Verschiedene Substanzen werden nach Meltzer und Auer offenbar vom Muskelgewebe verschieden rasch resorbiert.

Über die Resorptionsbedingungen für kolloidale Lösungen wie das Serum war man aber immer noch im unklaren, obwohl doch eine exakte Kenntnis von entschiedener Bedeutung gewesen wäre. Die folgenden Versuche, die

[1] Berghaus, *Centralblatt für Bakteriologie.* Orig. 1909. Bd. L. S. 87.

[2] Morgenroth, *Diese Zeitschrift.* 1904. Bd. XLVIII.

[3] J. S. Meltzer u. John Auer, On the rate of absorption of intramuscular tissue. *The Journ. of experim. med.* 1905. Vol. VII.



die Grundlage für unsere weiteren Ausführungen und für die Empfehlung der intramuskulären Diphtherieseruminjektion bilden, wurden bereits Anfang des Jahres 1907 begonnen, konnten aber erst im Sommer 1911 zu Ende geführt werden. Wir haben 1907 schon kurz über unsere ersten Ergebnisse berichtet, und es sind inzwischen bereits mehrere Arbeiten von anderer Seite erschienen, die sich auf unsere Versuche beziehen (Gabriel, Eckert, Levin, Berlin, Hoesch).

Es handelte sich für uns darum, festzustellen, wie rasch von den hauptsächlich für die praktische Anwendung in Betracht kommenden Geweben, der Subcutis und der Muskulatur aus die Resorption des Diphtherieserums erfolgt; in den ersten Versuchsreihen zogen wir noch die intravenöse Injektion heran, um eine Vorstellung für die Antitoxinkonzentration zu erhalten, die bei der verwandten Serummenge überhaupt im Blut der Versuchstiere zu erreichen war.

Zu den Versuchen[1] wurde ein besonders hochwertiges flüssiges Diphtherieheilserum verwendet, für dessen Überlassung wir Hrn. Dr. Hans Aronson zu Dank verbunden sind. Das Serum war ursprünglich 1000 fach. Bei unserer ersten Prüfung im Frühjahr 1907 enthielt es noch mehr als 900 Immuneinheiten in 1 ccm, das Serum wurde im Eisschrank aufbewahrt und erwies sich im Sommer 1911 noch als knapp 800 fach.

Die Diphtheriegifte wurden uns vom Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. zur Verfügung gestellt, wofür wir auch an dieser Stelle Sr. Exzellenz Hrn. Wirkl. Geheimrat P. Ehrlich bestens danken. Das zuerst verwandte Gift hatte die L_+-Dosis = 0·285, Dos. let. = 0·004. Das neuerdings benutzte Gift war mit L_+ = 0·365 eingestellt. Da es sich bei unseren Versuchen ausschließlich um relative Antitoxinwerte und in keiner Weise etwa um die exakte Feststellung der jeweils vorhandenen Immunitätseinheiten handelte, brauchte auf eine etwaige Abschwächung der im Eisschrank unter Toluol aufbewahrten Toxine um so weniger Rücksicht genommen zu werden, als diese bei den abgelagerten Prüfungsgiften ohnehin geringfügig ist.

Wir konnten auch ohne Bedenken Bruchteile der L_+-Dosis für unsere Einstellungen verwenden. Es war dies schon deshalb geboten, weil wir darauf rechnen mußten, in dem Serum unserer Kaninchen nur geringe Antitoxinkonzentrationen anzutreffen. Einen Ausgleich aber durch Verwendung größerer Mengen des Serums der injizierten Kaninchen zu schaffen, verbot sich schon deshalb, weil wir den Tieren öfters Blut entnehmen mußten und uns hier auf das unbedingt nötige Maß beschränkten,

[1] Die Kosten der Versuche wurden aus den Prof. Morgenroth gewährten Mitteln der Gräfin Louise Bose-Stiftung bestritten.



um nicht schwer zu übersehende Komplikationen zu schaffen. Wir entnahmen den Kaninchen stets 3 bis 5 ccm Blut aus der Ohrvene und gossen das Serum nach 24 stündigem Verweilen im Eisschrank ab. Die Prüfung wurde möglichst bald nach der Entnahme vorgenommen. Die Aufbewahrung der Sera (ohne Zusatz) geschah anfangs im Eisschrank, bei den späteren Versuchen eingefroren bei — 10°.

Die Versuchsreihen B bis E sind mit 1/10 L_+ der Testgifte angestellt, so daß eine annähernde Umrechnung der gewonnenen Antitoxinwerte auf Immunitätseinheiten möglich ist. Bei Versuchsreihe A, die zunächst nur einen orientierenden Charakter trug, wurde nur etwas weniger als das doppelte der Dosis letalis angewandt. Wie aus dem Versuchsprotokoll zu entnehmen ist, kommen auch hier die Ausschläge zu voller Geltung.

Im übrigen wurde die Bestimmung der Antitoxinwerte an Meerschweinchen in engstem Anschluß an die Ehrlichsche Prüfungstechnik ausgeführt. Wir lassen nun die einzelnen Versuchsreihen folgen.

Versuchsreihe A (März 1907).

Drei Kaninchen wurde je 1 ccm des Diphtherieserums injiziert und zwar:
Kaninchen I (1880 grm) subkutan
„ II (2050 „) intramuskulär (Oberschenkelstreckseite)
„ III (2120 „) intravenös (Ohrvene).

Die Gewichte der Kaninchen sind so, daß das resorbierte Antitoxin bei intramuskulärer und intravenöser Injektion die stärkste Verdünnung in der Blutbahn erfahren muß.

Die Blutentnahme erfolgte 5 Stunden und 8 Stunden nach der Injektion.

a) Nach 5 Stunden.

Kaninchen I (subkutan).

Meerschweinchen Nr. 62, 280 grm, 0·0075 Gift (< 2 Dos. let.) + 0·04 Serum. 1. Tag sehr starkes Infiltrat. 3. Tag krank, kühl, 235 grm. † nachmittags. Starkes hämorrhag. Infiltrat. Hydrothorax. Nebennieren dunkelrot.

Meerschweinchen Nr. 63, 280 grm, 0·0075 Gift + 0·1 Serum. 1. Tag sehr starkes Infiltrat. 3. Tag nicht ganz munter, 240 grm. 4. Tag krank. 6. Tag †. Starkes Infiltrat, Nebennieren punktförmige Hämorrhagieen.

Meerschweinchen Nr. 64, 280 grm, 0·0075 Gift + 0·2 Serum. 1. Tag mäßiges Infiltrat. 3. Tag deutliches Infiltrat, 270 grm. 4. Tag krank. 6. Tag munter, 220 grm. Erholt sich, keine Nekrose, ausgedehnte Enthaarung.

Kaninchen II (intramuskulär).

Meerschweinchen Nr. 65, 270 grm, 0·0075 Gift + 0.01 Serum. 1. Tag ziemlich starkes Infiltrat. 3. Tag munter, 250 grm. 6. Tag linsengroße Nekrose, 220 grm. 9. Tag ausgedehnte Nekrose mit Enthaarung. 14. Tag Schorf abgestoßen, Enthaarung; hat sich erholt.



Meerschweinchen Nr. 66, 210 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag 0. 3. Tag feiner Strang an der Injektionsstelle, nicht ganz munter. 6. Tag matt, 205 ^{grm}. 9. Tag ausgedehnte Enthaarung, kleiner Schorf. 260 ^{grm}. 14. Tag Schorf abgestoßen, Tier munter.

Meerschweinchen Nr. 67, 200 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0·04 Serum. Bleibt leben ohne Krankheitserscheinungen.

Kaninchen III (intravenös).

Meerschweinchen Nr. 68, 330 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0·0067 Serum. Bleibt leben, keine Krankheitserscheinungen.

Meerschweinchen Nr. 69, 270 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0·01 Serum. Bleibt leben, keine Krankheitserscheinungen.

b) Nach 8 Stunden.

Kaninchen I (subkutan).

Meerschweinchen Nr. 51, 240 ^{grm}, 0.0075 Gift + 0.02 Serum. 2. Tag mäßiges Infiltrat, 220 ^{grm}. 3. Tag nicht ganz munter. 6. Tag †, starkes hämorrhagisches Infiltrat, Nebennieren punktförm. Hämorrhag., Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 52, 225 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0·04 Serum. 2. Tag starkes Infiltrat. 3. Tag Infiltrat etwas kleiner, 205 ^{grm}. 6. Tag †, starkes Infiltrat, punktförmige Hämorrhag. in den Nebennieren, Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 53, 220 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0·1 Serum. Bleibt leben, keine Krankheitserscheinungen.

Kaninchen II (intramuskulär).

Meerschweinchen Nr. 60, 300 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0·0067 Serum. 1. Tag deutliches Infiltrat. 3. Tag sehr starkes Infiltrat, 285 ^{grm}. 9. Tag ausgedehnte Nekrose. 23. Tag †.

Meerschweinchen Nr. 54, 290 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0·01 Serum. 2. Tag mäßiges Infiltrat. 6. Tag Infiltrat rauher, 270 ^{grm}. 11. Tag Nekrose mit Enthaarung. 16. Tag Nekrose abgeheilt.

Meerschweinchen Nr. 55, 265 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0·02 Serum. Bleibt leben, keine Krankheitserscheinungen.

Meerschweinchen Nr. 56, 260 ^{grm}. Bleibt leben, keine Krankheitserscheinungen.

Kaninchen III (intravenös).

Meerschweinchen Nr. 61, 310 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0·0067 Serum. 1. Tag starkes Infiltrat. 4. Tag nicht ganz munter, 260 ^{grm}. 9. Tag kreisförmige Nekrose mit Enthaarung, 300 ^{grm}. 14. Tag zunehmende Enthaarung. 27. Tag †.

Meerschweinchen Nr. 57, 295 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0·01 Serum. Bleibt leben, keine Krankheitserscheinungen.

Meerschweinchen Nr. 58, 265 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0·02 Serum. Bleibt leben, keine Krankheitserscheinungen.

Meerschweinchen Nr. 59, 250 ^{grm}, 0·0075 Gift + 0.04 Serum. Bleibt leben, keine Krankheitserscheinungen.



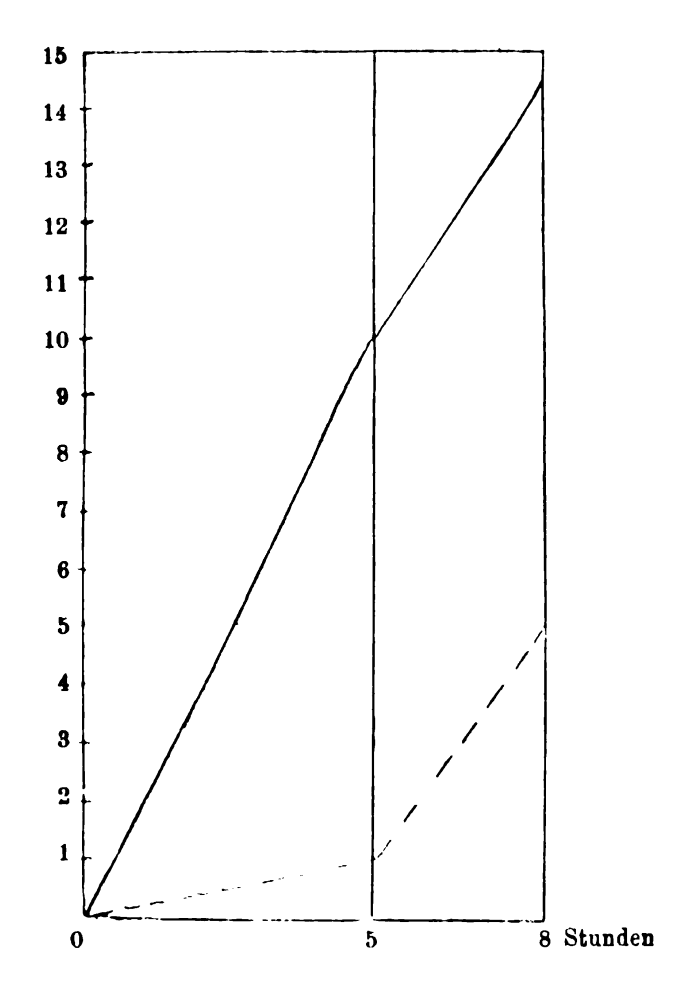


Fig. 1.

Die Kurve (s. Fig. 1) gibt die graphische Darstellung für den Verlauf der Resorption bzw. den jeweiligen Antitoxingehalt des Blutes nach subkutaner und intramuskulärer Injektion der Kaninchen.

Die folgende tabellarische Zusammenstellung soll eine Übersicht gewähren über die Ergebnisse der Versuchsreihen. In der ersten Vertikalreihe werden die Serummengen aufgeführt, die zusammen mit der stets gleichen Diphtheriegiftmenge dem Meerschweinschen subkutan zur Prüfung des Antitoxingehaltes injiziert wurden. Die Wirkung des Serums, das nach subkutaner, intramuskulärer oder intravenöser Injektion der Kaninchen von diesen Tieren gewonnen war, wird in den entsprechend bezeichneten Rubriken veranschaulicht.

Versuchsreihe A.

Serummenge	Nach 5 Stunden			Nach 8 Stunden		
	subkutan	intramuskulär	intravenös	subkutan	intramuskulär	intravenös
0·0067			0		≡	≡
0·01		≡	0		=	0
0·02		≡		† 6. Tag	0	0
0·04	† 3. Tag	0		† 6. Tag	0	0
0·1	† 6. Tag			0		
0·2	≡					

0 = keine Krankheitserscheinungen
(0) = fast keine „
(—) = geringe „
— = mäßige „
= = starke „
≡ = sehr starke „

Die Antitoxinkonzentrationen im Blut verhalten sich also:

	bei subkutaner,	intramuskulärer	und intravenöser Injektion
nach 5 Stunden	wie 1	: 10—20	: 30
„ 8 „	„ 1	: 3	: 3

Versuchsreihe B (März 1907).

3 Kaninchen wurde je 0·5 ccm des Diphtherieserums injiziert und zwar:
Kaninchen I (1310 grm) subkutan
„ II (1210 „) intramuskulär (Oberschenkelstreckseite)
„ III (1000 „) intravenös.

Die Blutentnahme erfolgte aus der Ohrvene nach 4 Stunden und nach 27 Stunden.

Prüfung mit $1/10\ L_+ = 0 \cdot 029$ ccm.

a) Nach 4 Stunden.

Kaninchen I (subkutan).

Meerschweinchen Nr. 82, 200 grm, 0·029 Gift (mehr als 7 Doses letales) + 0·1 Serum. 1. Tag deutliches Infiltrat. 2. Tag starkes Infiltrat, nicht ganz munter, 185 grm. 3. Tag †. Hämorrhag. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, kein Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 83, 200 grm, 0·029 Gift + 0·2 Serum. 1. Tag ziemlich starkes Infiltrat. 3. Tag †. Hämorrhagisches Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, kein Hydrothorax.

Kaninchen II (intramuskulär).

Meerschweinchen Nr. 84, 220 grm, 0·029 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag deutliches Infiltrat. 2. Tag †. Hämorrhag. Ödem und Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, kein Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 85, 210 grm, 0·029 Gift + 0·04 Serum. 1. Tag Spürchen Infiltrat. 2. Tag deutliches Infiltrat, nicht ganz munter, 190 grm. 3. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, starker Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 86, 210 grm, 0·029 Gift + 0·1 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag Spürchen Infiltrat. 3. Tag Infiltrat abgeflacht, 230 grm. 22. Tag 0.

Kaninchen Nr. III (intravenös).

Meerschweinchen Nr. 87, 205 grm, 0·029 Gift + 0·01 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt leben.

Meerschweinchen Nr. 88, 200 grm, 0·029 Gift + 0·02 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt leben.

Meerschweinchen Nr. 89, 200 grm. Keine Krankheitserscheinungen. Am 5. Tag tot aufgefunden. Sektion ergibt kein Anzeichen von Diphtherievergiftung.

b. Nach 27 Stunden.

Kaninchen I (subkutan).

Meerschweinchen Nr. 90, 170 grm, 0·029 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag Spürchen Infiltrat. 2. Tag †. Hämorrhag. Ödem und Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, kein Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 91, 170 grm, 0·029 Gift + 0·04 Serum. 1. Tag Spürchen Infiltrat. 2. Tag Infiltrat deutlich. 3. Tag †. Geringes Infiltrat, Nebennieren stark gerötet, kein Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 92, 170 grm, 0·029 Gift + 0·1 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt leben.

Kaninchen II (intramuskulär).

Meerschweinchen Nr. 93, 180 grm, 0·029 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag geringes Infiltrat. 2. Tag Infiltrat deutlich. 8. Tag Enthaarung und bandförmige Nekrose. 22. Tag abgeheilt.

Meerschweinchen Nr. 94, 180 grm. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt leben.

Meerschweinchen Nr. 95, 175 grm. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt leben.

Kaninchen III (intravenös).

Meerschweinchen Nr. 96, 180 grm, 0·029 Gift + 0·02 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt leben.

Meerschweinchen Nr. 97, 185 grm, 0·029 Gift + 0·04 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt leben.

Meerschweinchen Nr. 98, 190 grm, 0·029 Gift + 0.1 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt leben.

Versuchsreihe B.

Serummenge	Nach 4 Stunden			Nach 27 Stunden		
	subkutan	intramuskulär	intravenös	subkutan	intramuskulär	intravenös
0·01			0			
0·02		† 2. Tag	0	† 2. Tag	≡	0
0·04		† 3. Tag	0	† 3. Tag	0	0
0·1	† 3. Tag	—		0	0	0
0·2	† 3. Tag					



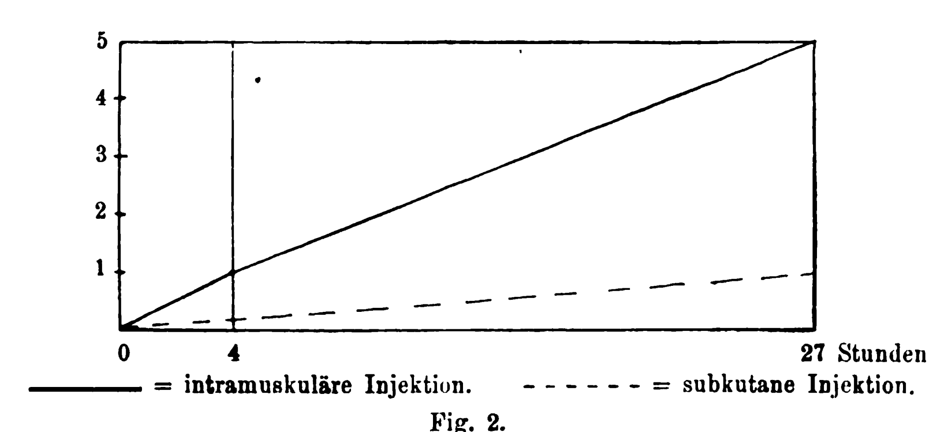


Fig. 2.

Die Antitoxinkonzentrationen im Blut verhalten sich also:

	bei subkutaner,	intramuskulärer	und intravenöser Injektion
nach 4 Stunden wie	1	: 5	: <20
„ 27 „ „	2	: 5	: 10

Versuchsreihe C (März/April 1907).

Von dem Diphtherieserum wurde 3 Kaninchen 0·5 ccm injiziert und zwar
Kaninchen I (1600 grm) subkutan
„ II (1500 „) intramuskulär (Oberschenkelstreckseite)
„ III (1390 „) intravenös.

Nach der Injektion von Kaninchen II (intramuskulär) blutet es aus dem Stichkanal, so daß man annehmen muß, daß es zu einer gröberen Gefäßverletzung bei der Injektion gekommen ist.

Blutentnahme nach 4 Stunden und nach $7^1/_4$ Stunden.

a) Nach 4 Stunden.

Kaninchen I (subkutan).

Meerschweinchen Nr. 101, 200 grm, 0·029 Gift + 0·05 Serum (L_+ dos. = 0·285). 1. Tag mäßiges Infiltrat. 2. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, starker Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 102, 205 grm, 0·029 Gift + 0·1 Serum. 1. Tag ziemlich starkes Infiltrat. 2. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot. Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 103, 195 grm, 0·029 Gift + 0·2 Serum. 1. Tag geringes Infiltrat. 2. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, geringer Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 104, 205 grm, 0·029 Gift + 0·4 Serum. 1. Tag Spürchen Infiltrat. 2. Tag Infiltrat deutlich. 6. Tag noch Spürchen Infiltrat. 19. Tag abgeheilt.

Kaninchen II (intramuskulär).

Meerschweinchen Nr. 105, 210 grm, 0·029 Gift + 0·02 Serum. 2. Tag †. Hämorrhagisches Ödem und leichtes Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, Hydrothorax.



Meerschweinchen Nr. 106, 210 grm, 0·029 Gift + 0·033 Serum. 2. Tag †. Kein Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, Spürchen Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 107, 190 grm, 0·029 Gift + 0·05 Serum. 1. Tag feiner Infiltrationsstrang. 2. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, starker Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 108, 185 grm, 0·029 Gift + 0·1 Serum. 2. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, starker Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 109, 190 grm, 0·029 Gift + 0·2 Serum. 1. Tag feiner Strang. 2. Tag Infiltrat deutlich, nicht ganz munter, 180 grm. 3. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, starker Hydrothorax.

Kaninchen III (intravenös).

Meerschweinchen Nr. 110, 310 grm, 0·029 Gift + 0·0067 Serum. 1. Tag 0. 3. Tag deutliches Infiltrat. 6. Tag noch Spur Infiltrat. 19. Tag nur ziemlich ausgedehnte Enthaarung.

Meerschweinchen Nr. 111, 310 grm, 0·029 Gift + 0·01 Serum. 1. Tag Spürchen Infiltrat. 2. Tag starkes Infiltrat, 260 grm. 3. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, hämorrhagischer Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 112, 320 grm, 0·029 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag geringe Spur Infiltrat an dem Einstichkanal. 6. Tag 0.

Meerschweinchen Nr. 113, 320 grm, 0·029 Gift + 0·04 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt leben.

b) Nach 7¼ Stunden.

Kaninchen I (subkutan).

Meerschweinchen Nr. 114, 280 grm, 0·029 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag deutliches Infiltrat. 3. Tag †. Hämorrhagisches Infiltrat, Nebennieren hochrot mit dunkelroten Flecken, Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 115, 280 grm, 0·029 Gift + 0·025 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag deutliches Infiltrat. 3. Tag †. Infiltrat, Nebennieren hochrot mit dunkelroten Flecken, kein Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 116, 290 grm, 0·029 Gift + 0·033 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag Infiltrat. 3. Tag †. Infiltrat, Nebennieren hochrot, kein Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 117, 285 grm, 0·029 Gift + 0.05 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag ziemlich starkes Infiltrat. 3. Tag nicht munter, 240 grm. 4. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, kein Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 118, 285 grm, 0·029 Gift + 0·1 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt leben.

Kaninchen II (intramuskulär).

Meerschweinchen Nr. 119, 270 grm, 0·029 Gift + 0·0125 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag geringes Infiltrat, nicht ganz munter, 240 grm. 3. Tag †. Hämorrhag. Infiltrat, Nebennieren hochrot, kein Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 120, 265 grm, 0·029 Gift + 0·0166 Serum. 1. Tag Spur Infiltrat. 2. Tag †. Geringes Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, starker Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 121, 245 grm, 0·029 Gift + 0·025 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag Spürchen Infiltrat. 3. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, Hydrothorax.



Meerschweinchen Nr. 122, 245 grm, 0·029 Gift + 0·04 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag krank, Spur Infiltrat. 3. Tag †. Starkes Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, geringer Hydrothorax.

Kaninchen III (intravenös).

Meerschw. Nr. 123, 240 grm, 0·029 Gift + 0·01 Serum	Keine Krankheitserscheinungen. Die Tiere bleiben am Leben.
„ „ 124, 240 „ 0·029 „ + 0·0125 „	
„ „ 125, 230 „ 0·029 „ + 0·0166 „	
„ „ 126, 230 „ 0·029 „ + 0·025 „	
„ „ 127, 230 „ 0·029 „ + 0·04 „	

Versuchsreihe C.

Serummenge	Nach 4 Stunden			Nach $7^1/_4$ Stunden		
	subkutan	intramuskulär	intravenös	subkutan	intramuskulär	intravenös
0·0067			(0)			
0·01			† 3. Tag			0
0·0125					† 3. Tag	0
0·0166					† 2. Tag	0
0·02		† 2. Tag	0	† 3. Tag		
0·025				† 3. Tag	† 3. Tag	0
0·033		† 2. Tag		† 3. Tag		
0·04			0		† 8. Tag	0
0·05	† 2. Tag	† 2. Tag		† 4. Tag		
0·1	† 2. Tag	† 2. Tag		0		
0·2	† 2. Tag	† 3. Tag				
0·25	—					

Wir führen diesen Versuch mit Absicht hier an, obwohl daraus Vorzüge der intramuskulären Injektion nicht nachweisbar scheinen. Wie oben schon erwähnt, trat bei dem Kaninchen II nach der intramuskulären Einspritzung eine Blutung aus dem Stichkanal ein, wobei vielleicht ein Teil des Serums wieder mit herausgeschwemmt wurde. Wahrscheinlicher ist es, daß es zur Ausbildung eines intramuskulären Hämatoms gekommen ist, das die Serumresorption beeinträchtigt hat. Man sieht an dieser Versuchsreihe auch, daß eine Gefäßverletzung nicht zu einer Injektion der Flüssigkeit in die Blutbahn führt. Wie die Komplikation der Hämatombildung in praxi zu vermeiden ist, ist später noch zu erwähnen.

Versuchsreihe D (Mai 1911).

2 Kaninchen wurde je 1 ccm Diphtherieserum injiziert und zwar:
Kaninchen I (1950 grm) subkutan (Oberschenkel)
„ II (1860 „) intramuskulär (Streckseite des Oberschenkels).
Die Blutentnahme erfolgte nach 4, $7^3/_4$ und 24 Stunden.



a) Nach 4 Stunden.

Kaninchen I (subkutan).

Meerschweinchen Nr. 151, 210 grm, 0·037 Gift + 0·04 Serum (L_+ dosis des Giftes = 0·365). 1. Tag großes Infiltrat, nicht ganz munter. 2. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, mäßiger Hydrothorax, Lungenatelektase.

Meerschweinchen Nr. 152, 210 grm, 0·037 Gift + 0·1 Serum. 1. Tag geringes Infiltrat. 2. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, starker Hydrothorax, Lungenatelektase.

Meerschweinchen Nr. 153, 210 grm, 0·037 Gift + 0·2 Serum. 1. Tag derbes Infiltrat. 2. Tag nicht ganz munter, sehr großes Infiltrat. 3. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 172, 260 grm, 0·037 Gift + 0·4 Serum. 1. Tag Infiltrat. 2. Tag Infiltrat größer. 9. Tag zehnpfennigstückgroße Nekrose.

Kaninchen II (intramuskulär).

Meerschweinchen Nr. 154, 215 grm, 0·037 Gift + 0·04 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag geringes Infiltrat, 220 grm. 3. Tag nicht ganz munter, 215 grm. 5. Tag †. Infiltrat, Lungenatelektase, kein Hydrothorax. Linke Nebenniere fleckweise Hämorrhagien, rechte normal.

Meerschweinchen Nr. 174, 265 grm, 0·037 Gift + 0·05 Serum. 1. Tag Spur Infiltrat. 2. Tag Infiltrat größer, Tier munter, 9. Tag markstückgroße Nekrose.

Meerschweinchen Nr. 155, 210 grm, 0·037 Gift + 0·1 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, Tier bleibt am Leben.

Meerschweinchen Nr. 156, 200 grm, 0·037 Gift + 0·2 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, Tier bleibt am Leben.

b) Nach 7³/₄ Stunden.

Kaninchen I (subkutan).

Meerschweinchen Nr. 158, 230 grm, 0.037 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag streifenf. Infiltrat. 2. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 159, 200 grm, 0·037 Gift + 0·04 Serum. 1. Tag großes Infiltrat. 2. Tag nicht ganz munter, 180 grm. 3. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 160, 200 grm, 0·037 Gift + 0·1 Serum. 1. Tag Spur Infiltrat. 2. Tag starkes Infiltrat. 6. Tag krank, 150 grm. 10. Tag †. Infiltrat, Lungenatelektase, sonst ohne Befund.

Meerschweinchen Nr. 161, 200 grm, 0·037 Gift + 0·2 Serum. Keine Krankheitserscheinungen. † am 25. Tag.

Kaninchen II (intramuskulär).

Meerschweinchen Nr. 162, 230 grm, 0·037 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag Infiltrat. 4. Tag munter. 8. Tag †. Derbes Bauchdeckeninfiltrat, sonst ohne Befund.

Meerschweinchen Nr. 163, 220 grm, 0·037 Gift + 0·04 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag 0. 3. Tag feiner Strang von Infiltrat. 15. Tag ausgedehnte Nekrose, 160 grm. 23. Tag †.

Meerschweinchen Nr. 164. 200 grm, 0·037 Gift + 0·1 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, lebt.



c) Nach 24 Stunden.

Kaninchen I (subkutan).

Meerschweinchen Nr. 165, 270 grm, 0·037 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag Infiltrat. 2. Tag krank, Infiltrat größer. 4. Tag munter. 10. Tag Nekrose mit Enthaarung, 180 grm. 11. Tag †. Ausgedehnte Nekrose am Bauch, sonst ohne Befund.

Meerschweinchen Nr. 166, 250 grm, 0·037 Gift + 0·04 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag 0. 3. Tag feiner Strang von Infiltration. 9. Tag 0. 16. Tag 0.

Meerschweinchen Nr. 167, 240 grm, 0·037 Gift + 0·1 Serum. Keine Krankheitserscheinungen. † nach 4 Wochen.

Kaninchen II (intramuskulär).

Meerschweinchen Nr. 168, 260 grm, 0·037 Gift + 0·01 Serum. 1. Tag großes Infiltrat. 2. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 169, 250 grm, 0·037 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag Infiltrat. 3. Tag Infiltrat größer, 210 grm. 6. Tag †. Starkes Infiltrat, kein Hydrothorax, partielle Lungenatelektase, feine Hämorrhagien in den Nebennieren.

Meerschweinchen Nr. 170, 250 grm. Keine Krankheitserscheinungen, † nach 4 Wochen.

Versuchsreihe D.

Serummenge	Nach 4 Stunden		Nach 7¾ Stunden		Nach 24 Stunden	
	subkutan	intramuskulär	subkutan	intramuskulär	subkutan	intramuskulär
0·01						† 2. Tag
0·02			† 2. Tag	≡	≡	≡ († 6. Tag)
0·04	† 2. Tag	† 5. Tag	† 3. Tag	(—)	(—)	0
0·05		=				
0·1	† 2. Tag	0	≡	0	0	
0·2	† 3. Tag	0	0			
0·4	=					

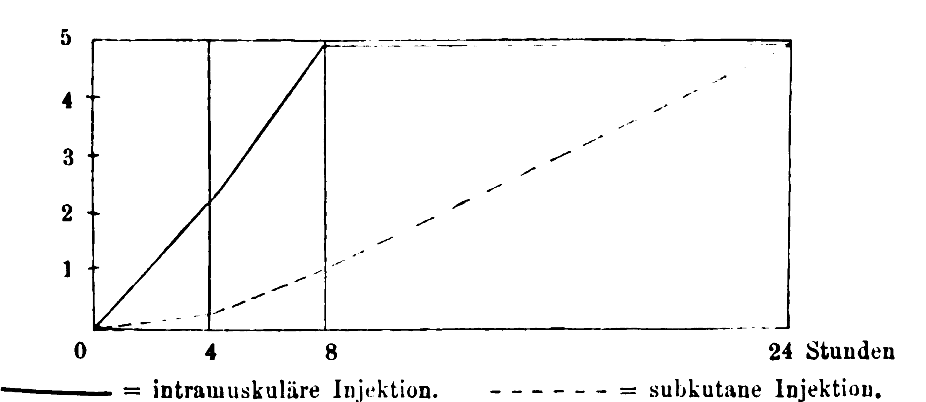


Fig. 3.

6*

Die Antitoxinkonzentrationen im Blut verhalten sich also

	bei subkutaner	und intramuskulärer Injektion
nach 4 Stunden wie	1	: 8
„ $7^1/_4$ „ „	1	: 5
„ 24 „ „	1	: 1

Versuchsreihe E (Mai/Juni 1911).

2 Kaninchen wird Diphtherieserum injiziert und zwar:
Kaninchen I (1350 grm) 1·0 ccm subkutan
„ II (1850 „) 1·2 „ intramuskulär (Oberschenkelstreckseite).

Wegen der großen Gewichtsdifferenz wurde Kaninchen II etwas mehr Serum eingespritzt und zwar 0·2 ccm mehr, während 0·37 ccm dem tatsächlichen Gewichtsunterschiede entspräche.

Die Blutentnahme erfolgte nach 4, $8^1/_4$ und 23 Stunden.

a) Nach 4 Stunden.

Kaninchen I (subkutan).

Meerschweinchen Nr. 200, 300 grm, 0·037 Gift + 0·1 Serum. 1. Tag geringes Infiltrat. 2. Tag ausgedehntes Infiltrat. 3. Tag †. Hämorrhagisches Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, geringer Hydrothorax, Lungenatelektase.

Meerschweinchen Nr. 201, 250 grm, 0·037 Gift + 0·2 Serum. 1. Tag Infiltrat. 2. Tag munter, 210 grm. 3. Tag †. Infiltrat, Nebennieren rot, starker Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 202, 200 grm, 0·037 Gift + 0·4 Serum. 1. Tag ausgedehntes Infiltrat. 3. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, Hydrothorax.

Kaninchen II (intramuskulär).

Meerschweinchen Nr. 203, 310 grm, 0·037 Gift + 0·04 Serum. 1. Tag Spur Infiltrat. 4. Tag breites, hartes Infiltrat. 6. Tag †. Infiltrat, Nebennieren normal, kein Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 204, 260 grm, 0·037 Gift + 0·05 Serum. 1. Tag munter, feiner Strang von Infiltrat. 3. Tag Infiltrat etwas größer und härter. 7. Tag morgens tot aufgefunden, keine Zeichen von Diphtherievergiftung. Magen leer.

Meerschweinchen Nr. 205, 200 grm, 0·037 Gift + 0·1 Serum. 1. Tag 0. 4. Tag geringes strangförmiges Infiltrat. 9. Tag ganz feiner Strang noch fühlbar. 14. Tag †.

b) Nach $8^1/_4$ Stunden.

Kaninchen I (subkutan).

Meerschweinchen Nr. 206, 270 grm, 0·037 Gift + 0·05 Serum. 1. Tag 0. 3. Tag geringes Infiltrat. 4. Tag †. Hämorrhagisches Infiltrat, Nebennieren gerötet, kein Hydrothorax.



Meerschweinchen Nr. 207, 240 grm, 0·037 Gift + 0·1 Serum. 1. Tag Infiltrat. 2. Tag stirbt am Nachmittag. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 208, 175 grm, 0·037 Gift + 0·2 Serum. 1. Tag Infiltrat. 3. Tag †. Infiltrat, Nebennieren rot, kein Hydrothorax.

Kaninchen II (intramuskulär).

Meerschweinchen Nr. 209, 290 grm, 0·037 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag 0. 3. Tag ziemlich ausgedehntes Infiltrat. 4. Tag †. Infiltrat, Nebennieren rot, kein Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 210, 240 grm, 0·037 Gift + 0·04 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag geringes Infiltrat. 7. Tag Enthaarung, 180 grm. 14. Tag †.

Meerschweinchen Nr. 211, 160 grm, 0·037 Gift + 0.1 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt am Leben.

c) Nach 23 Stunden.

Kaninchen I (subkutan).

Meerschweinchen Nr. 212, 280 grm, 0·037 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag 0. 2. Tag geringes Infiltrat. 3. Tag †. Kein ausgesprochenes Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 213, 260 grm, 0·037 Gift + 0·04 Serum. 1. Tag geringes Infiltrat. 3. Tag †. Infiltrat, Nebennieren dunkelrot, geringer Hydrothorax.

Meerschweinchen Nr. 214, 150 grm, 0·037 Gift + 0·1 Serum. 1. Tag 0. 3. Tag Spur Infiltrat. 4. Tag größeres Infiltrat. 9. Tag †.

Kaninchen II (intramuskulär).

Meerschweinchen Nr. 215, 260 grm, 0·037 Gift + 0·02 Serum. 1. Tag Spur Infiltrat. 4. Tag größeres Infiltrat. 9. Tag Enthaarung.

Meerschweinchen Nr. 216, 230 grm, 0·037 Gift + 0·04 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt am Leben.

Meerschweinchen Nr. 217, 150 grm, 0·037 Gift + 0·1 Serum. Keine Krankheitserscheinungen, bleibt am Leben.

Versuchsreihe E.

Serummenge	Nach 4 Stunden		Nach $8^1/_4$ Stunden		Nach 23 Stunden	
	subkutan	intramuskulär	subkutan	intramuskulär	subkutan	intramuskulär
0·02				† 4. Tag	† 3. Tag	≡
0·04		≡ († 6. Tag)		—	† 3. Tag	0
0·05		≡ († 7. Tag)	† 4. Tag			
0·1	† 3. Tag	(—)	† 2. Tag	0	≡ († 9. Tag)	0
0·2	† 3. Tag		† 3. Tag			
0·4	† 3. Tag					



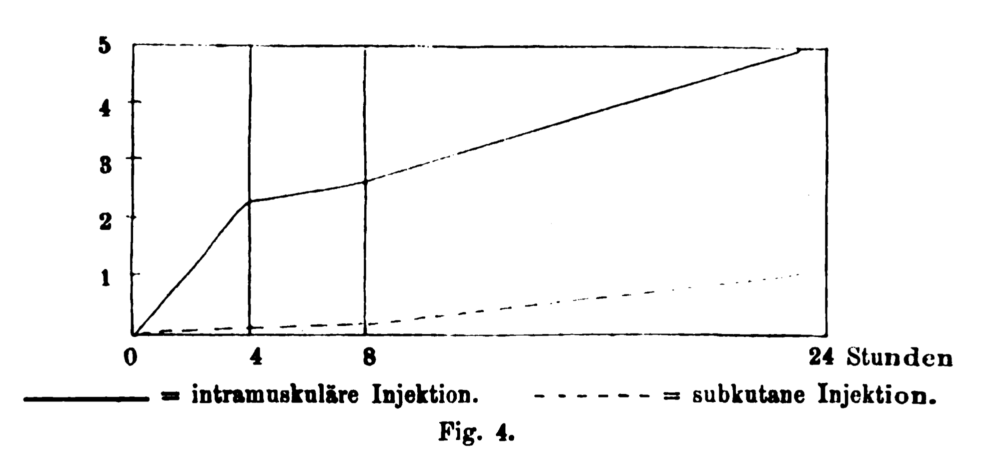


Fig. 4.

Die Antitoxinkonzentrationen im Blut verhalten sich also:

	bei subkutaner	und intramuskulärer Injektion
nach 4 Stunden wie	1	: < 10
„ $8^1/_4$ „ „	1	: 10
„ 23 „ „	1	: 5

Unsere Versuche zeigen somit, daß für die Resorption von Diphtherieantitoxin, einer kolloidalen Lösung, genau dieselben Bedingungen im Unterhautzellgewebe und in der Muskulatur gegeben sind, wie sie Meltzer und Auer für die kristalloiden Lösungen nachgewiesen haben, nämlich verzögerte Resorption bei subkutaner Injektion, rasche Aufnahme in die Blutbahn bei intramuskulärer Injektion. Die höchsten Antitoxinwerte fanden sich natürlich nach intravenöser Injektion, jedoch scheint bereits nach 8 Stunden die Konzentration abzunehmen (Versuchsreihe A). *Bei intramuskulärer Injektion kann schon nach 8 Stunden der Antitoxingehalt des Blutes dem nach intravenöser Injektion sehr nahe kommen.* Er beträgt nach 4 bis 5 Stunden das 5 bis 20fache, nach 7 bis 8 Stunden mindestens das 3 bis 10fache von dem nach subkutaner Injektion; sogar nach 24 Stunden kann noch ein Verhältnis 1 : 5 bestehen.

Daß die Aufnahme der Antikörper nach subkutaner Injektion beim Menschen und beim Versuchstier ganz überraschend langsam verläuft, konnte gleichzeitig und unabhängig von uns J. H. Smith[1] nachweisen. Die im Statens Seruminstitut in Kopenhagen angestellten Versuche erstreckten sich auf die Resorption von Coliagglutinin, Antitetanolysin und

[1] *The Journal of Hygiene.* 1907. p. 205.

Diphtherieserum und wurden an Kaninchen, Ziegen und Menschen vorgenommen. Bei intravenöser Injektion tritt selbstverständlich eine sofortige Überschwemmung des Blutes mit dem Antikörper ein, der aber sehr rasch wieder verschwindet und nach 24 Stunden ist nur noch etwa $^1/_3$ der anfangs nachweisbaren Menge vorhanden. Bei intraperitonealer Einverleibung fand Smith einen bis zur 30. Stunde zunehmenden Gehalt an Immunkörpern im Blut. Von diesem Zeitpunkt an fällt die Kurve in analog steiler Weise ab wie bei intravenöser Injektion. Das Maximum der resorbierten Einheiten betrug bei intraperitonealer Anwendung 250 gegen 540 bei intravenöser und 143 bei subkutaner Injektion. Hierbei muß hervorgehoben werden, daß das Maximum der Resorption bei subkutaner Injektion beim Menschen erst nach 2 bis 3 Tagen erreicht wird. Smith kommt auf Grund dieser Untersuchungen gleichfalls zu der richtigen Anschauung, daß durch die subkutane Injektion des Heilserums in schweren Krankheitsfällen wertvolle Zeit verloren wird.

Überhaupt herrscht über die Unzulänglichkeit der subkutanen Resorption nur eine Stimme bei allen Autoren (Cruveilhier[1], Lemaire[2], Dehne und Hamburger[3], kürzlich auch Karasawa und Schick[4]), die im Experiment diesen Vorgängen ihre Aufmerksamkeit geschenkt haben.

Wir haben schon darauf hingewiesen, daß nach den Untersuchungen von Morgenroth eine vollständige Bindung zwischen Toxin und Antitoxin auch im Tierkörper erst im Verlauf längerer Zeit eintritt. Nach unseren Versuchen und den Mitteilungen in der Literatur ist jedoch die Menge des innerhalb der ersten 24 Stunden nach subkutaner Injektion resorbierten Antitoxins eine relativ sehr geringe und erst am 3. Tag ist das an sich niedrige Maximum der Resorption erreicht. Durch Injektion sehr hoher Antitoxinmengen kann auch bei subkutaner Injektion ein relativ höherer Effekt erzielt werden. Am raschesten erreichen wir unsern Zweck, wenn wir hohe Dosen intravenös injizieren, wie es in England, Amerika und auch in Frankreich schon seit Jahren üblich ist. Während aus dem Ausland zahlreiche Mitteilungen über die Erfolge dieser Methode erschienen sind, hat man bei uns sich erst vor kurzem der Anwendung der hohen

[1] Cruveilhier, De la valeur thérapeutique des injections de sérum dans la diphth. etc. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1904. p. 41.

[2] Lemaire, Note sur les effets cliniques etc. *Soc. de biologie.* 1906. T. LX. p. 578.

[3] Dehne und Hamburger, Über das Verhalten artfremden Antitoxins im menschlichen Körper. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1907. S. 817.

[4] Karasawa und Schick, *Zeitschrift für Kinderheilkunde.* 1910. Bd. I.



Serumdosen und der intravenösen Injektion zugewandt[1–10], wohl auch angeregt durch die erste kurze Mitteilung unserer Versuche. Obwohl man bisher auch schon bei uns die intravenöse Injektion der Heilsera, speziell des Streptokokkenserums gelegentlich geübt hat, so stellt sich einer bestimmten und allgemein gültigen Indikation dieser Anwendungsart, abgesehen von einer weit verbreiteten Scheu vor intravenösen Injektionen, die jetzt durch die Salvarsantherapie allerdings schon zum Teil gewichen ist, auch noch der Umstand entgegen, daß unsere flüssigen Heilsera mit Phenol bzw. Trikresol versetzt sind, deren intravenöse Einführung in nicht geringen Mengen Bedenken begegnet. Der Anwendung des festen Diphtherieheilserums stünde allerdings nichts im Wege, wenn die in der Regel in der Lösung suspendierten unlöslichen Partikel durch Filtration entfernt werden. In den anderen Ländern kommt die Schwierigkeit überhaupt nicht in Frage, da dort Konservierungsmittel gar nicht zur Anwendung gelangen, und die Sterilität der Heilsera durch Filtration durch Bakterienfilter oder durch Pasteurisieren gesichert wird. Es lassen sich ja Gründe für die Beibehaltung antiseptischer Zusätze anführen, aber auf keinen Fall stünde unseres Erachtens etwas im Wege, für intravenöse Injektion ein flüssiges steriles, von Konservierungsmitteln freies Heilserum zuzulassen und in den Handel zu bringen.

Bei den schweren und verschleppten Fällen muß die intravenöse Anwendung großer Antitoxinmengen gefordert werden. Sie wird sich aber in der Praxis nicht so leicht durchführen lassen; denn wenn Fette, Tachau[11], Eckert in der Klinik bei geschulter und reichlicher Assistenz Schwierigkeiten bei den intravenösen Einspritzungen hatten, so wird sie für den praktischen Arzt häufig eine völlige Unmöglichkeit sein. Bei

---

u. a.:

[1] Cairns, On the treatment of diphtheria by intravenous administration of antidiphtheria serum. *Lancet.* 1902. Vol. II. p. 1685.

[2] A. O. Bisson, The injection of antitoxin in diphtheria by the intravenous method. *Ebenda.* 1906. Vol. II. p. 929.

[3] Biernacki and Muir, The intravenous injection of antitoxin in diphtheria. *Ebenda.* 1904. Vol. II. p. 1774.

[4] G. Thomas, La sérothérapie intensive. *Thèse de Paris.* 1909. Nr. 298.

[5] Fritz Meyer, Beiträge zur Serumtherapie der Diphtherie-Intoxikation. *Berl. klin. Wochenschrift.* 1909. S. 1202.

[6] Fette, Die Behandlung der Diphtherie mit intravenösen Seruminjektionen. *Med. Klinik.* 1909. S. 1891.

[7] Eckert, Diskussionsbemerkung. *Berl. klin. Wochenschrift.* 1909. S. 1183.

[8] Schreiber, *Münchener med. Wochenschrift.* 1909. S. 1597.

[9] Berlin, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1910. S. 210.

[10] Hoesch, Zur Diphtheriebehandlung. *Ebenda.* 1911. S. 1683.

[11] Tachau, *Therapie der Gegenwart.* 1910. S. 346.

kollabierten oder unruhigen Kindern, besonders in den beiden ersten Lebensjahren, wird das Auffinden der Vene wohl meistens mißlingen.

Daß die Einführung des Antitoxins direkt in die Blutbahn am raschesten eine hohe Konzentration des Immunstoffes in der Blutflüssigkeit erzeugt, die jene nach subkutaner, intramuskulärer oder intraperitonealer Einspritzung des Serums weit übertreffen muß, bedarf keiner weiteren Erörterung. Immerhin ist es aber interessant, daß der Antikörpergehalt pro Kubikzentimeter Blut auch nach intravenöser Injektion nicht die Konzentration erreicht, die man nach einer einfach volumetrischen Verdünnung des eingebrachten Immunkörpers in der ganzen Blutmenge erwarten sollte. Sie beträgt nach Levin[1] nur 40 bis 60 Prozent bei Einverleibung eines homologen Antikörpers, und vom heterologen Serum soll unmittelbar nach der Injektion noch mehr als bei dem homologen verschwinden. Dazu kommen noch beträchtliche individuelle Schwankungen selbst bei gleichartigen Tieren von gleichem Gewicht, Differenzen, die gelegentlich 50 Prozent betragen haben sollen.

Unsere Versuche haben ergeben, daß die intramuskuläre Injektion der subkutanen hinsichtlich der Resorptionsgeschwindigkeit bei weitem überlegen ist. Es besteht außerdem ein wesentlicher Vorteil gegenüber der intravenösen Injektion darin, daß für die ersten Tage eine ziemlich gleichbleibende und hohe Konzentration des Antitoxins im Blut geschaffen wird, während nach intravenöser Einverleibung bereits nach 24 Stunden etwa $^2/_3$ der verabreichten Antitoxineinheiten aus dem Blute wieder verschwunden sind.

Den intensiveren Erfolg einer intramuskulären Injektion hat man, wie Meltzer[2] neuerdings mitteilt, auf zweierlei Weise zu negieren versucht. Man glaubte, daß die Muskeln infolge ihres geringeren Gehaltes an Lymphgefäßen dem lymphbahnenreichen Subkutangewebe bezüglich der Resorptionsfähigkeit unterlegen sein müßten, während andere einwandten, die raschere Resorption bei intramuskulärer Injektion sei die Folge von Gefäßverletzungen beim Einstechen, so daß eigentlich eine partielle intravenöse Injektion stattfinde und die Ursache der prompten Wirkung darstelle. Daß die Lymphbahnen für die Resorption von kristalloiden Lösungen in weit geringerem Maße in Betracht kommen als die direkte Aufnahme durch das Blutkapillarnetz scheint heutigen Tages wohl nicht mehr einer Diskussion unterworfen zu werden müssen. Die Verletzung der Blutgefäße bei der intramuskulären Injektion zu vermeiden und somit die supponierte Fehlerquelle auszuschalten, hat sich Meltzer bemüht. „In diesen Versuchen wurden die starken Lendenmuskeln des Kaninchens freigelegt, ein kleiner Schlitz in die Faszie gemacht und durch diesen Schlitz eine dicke Glaskanüle langsam und vorsichtig in den Muskel eingebohrt, wo sie dann vermittels Nadel und

[1] Levin, Über passive Immunität. *Zeitschr. f. Immunitätsf.* Orig. 1909. Bd. I.

[2] Meltzer, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1911. S. 413.



Fadens befestigt wurde . . . Außerdem wurde mit einer Feder bis auf den Boden der Kanüle hineingegangen, wodurch festgestellt werden konnte, daß in keinem der Experimente am Boden der Kanüle freies Blut sich befand." Dann wurde die Kanüle durch einen Gummischlauch nach außen abgeschlossen, durch diesen die Injektionsspritze durchgestochen und Adrenalin eingespritzt, ohne daß die Injektionsnadel mit dem Muskelgewebe in direkte Berührung kam. Es stellte sich unmittelbar darnach eine Blutdrucksteigerung ein, die gegenüber der Druckerhöhung bei intravenöser Injektion von 6 bis 8 Minuten Dauer $^1/_2$ Stunde lang anhielt. Wir sehen also in den Versuchen Meltzers ein Analogon zu den Ergebnissen der Smithschen Experimente über Immunkörperresorption, die das rasche Verschwinden nach intravenöser Applikation darlegten.

Offenbar angeregt durch die Erfahrungen von Smith und unsere erste Mitteilung hat ebenfalls in Madsens Laboratorium Levin[1] mit Diphtherieantitoxin, mit Typhus- und Coliagglutinin die Unterschiede des Antikörpergehaltes des Serums nach verschiedener Applikationsweise studiert. Die rapide Abnahme intravenös eingeführter Immunstoffe wird hier abermals bestätigt, doch scheint homologes Serum, wie schon erwähnt, wesentlich besser im Kreislauf zurückgehalten zu werden als das heterologe, eine theoretisch recht interessante Tatsache, die für die praktische Serumtherapie beim Menschen aber nicht wird verwertet werden können. Unsere Resultate, die eine beträchtliche Überlegenheit des intramuskulären Resorptionsweges beweisen, konnte Levin vollauf bestätigen, „indem die im Blute erreichte Antitoxinkonzentration nach 10 Stunden 14 mal größer bei der intramuskulären als bei der subkutanen Applikation ist; nach 24 Stunden ist das Verhältnis noch etwa 3 : 1".

Worin sind nun die Vorzüge der Resorptionsverhältnisse von der Muskulatur aus gegenüber dem Subkutangewebe begründet? Nehmen wir den derzeit wohl vorherrschenden Standpunkt ein, daß Lösungen von Kristalloiden, wie sie Meltzer benutzt hat, ihren Eintritt in die Blutbahn nicht auf dem Umweg über die Lymphgefäße, sondern unmittelbar durch die Wand der Kapillaren findet, so erscheint es schon aus rein anatomischen Erwägungen heraus plausibel, daß die Muskulatur hierfür die günstigeren Verhältnisse darbietet als das Unterhautbindegewebe.

Das Muskelgewebe verfügt über ein reiches Netz von Blutkapillaren. Wird nun, wie Meltzer gezeigt hat, die zur Resorption bestimmte Lösung nur in Berührung mit der freiliegenden Muskelsubstanz gebracht, so wird von den Kapillaren nichts aufgenommen. Bei Einspritzung in den geschlossenen Muskel wird durch intramuskuläre Druckerhöhung die Flüssigkeit gleichsam in die Kapillaren hineinmassiert. Nun könnten wir eine derartige Steigerung des Gewebsdruckes auch im Subkutangewebe erzeugen,

[1] A. a. O.



und dies geschieht ja täglich, wo man größere Kochsalzinfusionen verabreicht. Jedoch genügen die relativ geringen Mengen, die wir als Medikamente oder als Serum einspritzen, zu einer nennenswerten Erhöhung des Gewebsdruckes nicht, und bei der spärlichen Gefäßentwicklung des Unterhautzellgewebes erfolgt die Aufnahme in die Blutbahn nicht mit der gewünschten Schnelligkeit, mit der sie im Muskel viel eher vonstatten gehen kann. Infolge der Bindegewebsumhüllung der einzelnen Muskelbündel und der derberen Faszie, die den ganzen Muskel fest einschließt, sowie der sehr festen allgemeinen Faszie genügt auch eine ganz geringe Volumenvermehrung, z. B. durch eine Seruminjektion, um eine wesentliche Spannung der Gewebe zu bewirken. Man kann sich von dem Druck, unter dem die allgemeine Faszie die Muskulatur hält, sehr leicht eine Vorstellung machen, wenn man daran denkt, wie besonders an den Extremitäten nach einer Inzision dieser Faszie die Muskelmasse hernienartig hervorquillt. Sind diese Voraussetzungen richtig, so müssen Muskeln von lockerer Beschaffenheit auch ungünstigere Verhältnisse für die Resorption bieten. Meltzer hat den Beweis hierfür erbracht, und diese Beobachtungen dürfen als wichtiger Fingerzeig gelten für die Auswahl der Muskelgruppen bei therapeutischen Injektionen. Die Glutäen mit ihren lockeren Muskelbündeln und ihrer flächenhaften Ausbreitung ermangeln einer derberen Faszienumhüllung und zeigen sich in Meltzers Versuchen bezüglich der Resorptionsgeschwindigkeit den Lendenmuskeln (musc. sacrospinalis) mit ihrer festen Faszien- und Knocheneinscheidung erheblich unterlegen. Die Injektion in der Glutealregion könnte auch bei den kleinen Patienten durch Verletzung der starken, vielverzweigten und kurzen Gefäße sehr leicht zu einem Hämatom führen, das die Resorption wesentlich verlangsamt, wie unsere Versuchsreihe C zeigt. Denn bei einer Gefäßverletzung ist die Hämatombildung unseres Erachtens viel eher der Fall als die Injektion in das Gefäßlumen. Auch Braun[1] betont, daß bei tiefer Injektion von Lokalanästheticis die Einspritzung der Flüssigkeit wohl nie in Gefäßlumina hinein erfolgt, sondern daß bei Gefäßverletzungen nur ein Hämatom sich bildet. Bei der Injektion in den Glutäus wären auch Läsionen des N. ischiadicus denkbar. Auch den Pectoralis halten wir für ungeeignet, zumal durch lokale Reaktion eventuell eine Erschwerung der Atmung zu befürchten wäre. Bei der Einspritzung in den M. sacrospinalis könnten durch Unvorsichtigkeit Verletzungen der Niere, der intraabdominellen Gebilde und durch Reizung sensibler Rückenmarksnerven unangenehme Nebenwirkungen eintreten.

Nach den bekannten Versuchen von Ransom[2] wird subkutan injiziertes Tetanusantitoxin auf dem Lymphwege resorbiert, ohne direkt durch die Kapillaren in die Blutbahn überzugehen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß für die kolloidale Lösung, wie sie das Diphtherieantitoxin darstellt, dieselbe Gesetzmäßigkeit gilt, und daß auch bei intramuskulärer Injektion die Aufnahme auf dem Lymphweg in Betracht kommt. Auch für diesen Fall würden die angeführten begünstigenden Momente ihre

[1] Braun, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1911. S. 1383.
[2] Ransom, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1901. Nr. 13–14.



Geltung nicht verlieren. Es können diese aber auch einen größeren Anteil der direkten kapillären Resorption vom Muskelgewebe aus zur Folge haben. Eine Entscheidung über diese theoretische Frage können erst Versuche bringen, die sich an Ransoms Methodik anschließen.

Wir bleiben also bei der schon früher von uns vorgebrachten Empfehlung der Streckmuskulatur des Oberschenkels, weil die Ärzte meistenteils hier auch die Vornahme der subkutanen Injektion gewohnt sind und nur durch eine steilere Einführung der Nadel in die Muskulatur vorzudringen brauchen. Ist die Nadel eingestochen, so nimmt man die Spritze ab, um zu sehen, ob die Kanüle sich mit Blut füllt. Dann setzt man, wenn dies nicht der Fall ist, die Spritze wieder der Kanüle auf, zieht den Stempel zurück, um sich auch so durch Aspiration zu vergewissern, daß man kein Gefäß verletzt hat, und spritzt dann langsam das Serum ein. Am besten wählt man die laterale Seite der Streckmuskeln, ungefähr etwas oberhalb der Mitte des Oberschenkels. Hier sind Nebenverletzungen so gut wie sicher auszuschließen.

Die intramuskulären Seruminjektionen sind nach Eckert absolut schmerzlos.

Günstige Berichte über die intramuskuläre Injektion des Heilserums bei Diphtherie liegen von Gabriel[1] (Abteilung von Prof. Neisser in Stettin) vor und von Eckert[2] aus der Heubnerschen Klinik in Berlin. An beiden Stellen hatte man sich auf Grund unserer Versuchsergebnisse zu der Übernahme der Methode in die Praxis entschlossen.

Vor kurzem teilte auch Hoesch[3] überaus günstige Ergebnisse der intramuskulären Serumbehandlung mit (Krankenhaus Friedrichshain, Berlin); auch er rühmt die Schmerzlosigkeit des Verfahrens, das an einem großen Patientenmaterial erprobt wurde und ebenso gute Erfolge zeitigte, wie die intravenöse Injektion.

Die Erfahrungen von Eckert, die in seiner vortrefflichen Abhandlung über die „Serumtherapie der Diphtherie" niedergelegt sind, werden am besten durch seine eigenen Worte wiedergegeben: „Ich bin fest überzeugt, daß jeder Arzt, der einmal die intramuskuläre Injektionsmethode statt der subkutanen angewendet hat, sie nicht mehr verlassen wird."

[1] Gabriel, Diphtherie. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1908. S. 1094.

[2] Eckert im *Handbuch der Serumtherapie.* Herausgegeben von Wolff-Eisner. München 1910.

[3] A. a. O.



Beitrag zur Kenntnis der Trypanosomen.

Von

W. Fischer,

Oberarzt in der Kaiserl. Schutztruppe für Deutsch-Ostafrika.

I. Übertragung von Trypanosoma brucei durch Glossina palpalis.

Gegen Ende des vorigen Jahrhunderts wurde die Aufmerksamkeit der Tropenärzte in hohem Maße durch die Verheerungen erregt, die die ihren klinischen Erscheinungen nach bereits seit langem bekannte menschliche Schlafkrankheit in den Gebieten Ugandas und Zentral-Afrikas anrichtete.

Einige Jahre gab man sich allen möglichen Vermutungen über ihre Ätiologie hin. Erst 1903 erkannte D. Bruce in Trypanosomen, welche Castellani in der Cerebrospinalflüssigkeit schlafkranker Menschen gefunden hatte, die Ursache der Seuche.

Da ihr Verbreitungsgebiet mit der Anwesenheit der Glossina palpalis zusammenfiel, so sprach man mit großer Wahrscheinlichkeit diese Glossinenart als Überträger der menschlichen Trypanosomiasis an. Dies wurde von Bruce in der Tat experimentell bewiesen.

Daß überhaupt eine Glossinenart als Überträger in Frage käme, mußte man nach der Feststellung desselben Forschers annehmen, der in Zululand als Überträger des nach ihm benannten Trypanosomas die Glossina morsitans ermittelt hatte.

Während man sich nun in dieser Frage einig war, so herrschte ein Zwiespalt in der Auffassung, wie die Übertragung der Schlafkrankheit sowie überhaupt sämtlicher Trypanosomenkrankheiten von gesunden auf kranke Individuen durch die Glossinen zustande käme.



Hier standen sich zwei Anschauungen diametral gegenüber: Bruce und Novy glaubten nur an eine rein mechanische Übertragung, d. h. die Fliegen sollten die beim Saugen an kranken Menschen oder Tieren aufgenommenen Trypanosomen beim nächsten Saugen in unveränderter Form auf Gesunde übertragen. R. Koch und Kleine dagegen vermuteten, daß die von einer Glossine beim Saugen an kranken Individuen aufgenommenen Trypanosomen im Verdauungskanal der Glossine einen geschlechtlichen Entwicklungsgang durchmachen müßten und daß erst nach dessen Abschluß die betreffende Glossine durch ihre Stiche gesunde Menschen oder Tiere zu infizieren vermöge. Kleine erbrachte dann für diese Auffassung den exakten experimentellen Beweis.

Bei seinen ersten dahinzielenden Übertragungsversuchen benutzte er als Ausgangsmaterial Schafe und Maultiere, die er durch Weiden im Tsetsegebiet auf natürlichem Wege hatte infizieren lassen, und zwar mit einem Trypanosoma, das er als Trypanosoma brucei ansprach.

Von Roubaud u. a. wurde später angezweifelt, ob es sich wirklich um Trypanosoma brucei gehandelt habe. Diese Zweifel hatten insofern eine gewisse Berechtigung, als allmählich durch die in den Schlafkrankheitsgebieten der verschiedenen Kolonien tätigen Kommissionen eine ganze Anzahl verschiedenartiger tierischer Trypanosomen festgestellt und beschrieben wurden, es sich somit herausstellte, daß die gemeinhin als „Tsetsekrankheit“ bezeichnete Erkrankung der Haustiere nicht durch ein einheitliches Trypanosoma hervorgerufen würde.

Für das Ergebnis der Kleinesche Arbeiten, nämlich Feststellung des Vorliegens einer geschlechtlichen Entwickelung der Trypanosomen in den Glossinen, ist es an und für sich gleichgültig, ob die Versuche mit Trypanosoma brucei oder einem anderen Trypanosoma vorgenommen wurden. Dagegen ist, wie wir weiter unten sehen werden, in anderer Beziehung die Frage interessant, ob auch das Trypanosoma brucei in der Glossina palpalis seine geschlechtliche Entwickelung durchmachen kann. Dies experimentell festzustellen, bot sich mir während einer anderen Arbeit Gelegenheit.

Während meiner Tätigkeit im Schlafkrankenlager Nianza am Tanganijka wurde mir von einer militärischen Expedition ein schwerkrankes Maultier zugeschickt. Das Tier bot klinisch alle Symptome einer fortgeschrittenen Nagana; wo es sich infiziert hatte, war mit Sicherheit nicht mehr festzustellen. Bei der mikroskopischen Untersuchung eines frischen Blutpräparates wurden zahlreiche Trypanosomen gefunden, die an Ort und Stelle eine lebhafte schlängelnde Beweglichkeit zeigten, aber nicht quer durch das Gesichtsfeld gingen.

In nach Romanowsky gefärbten Ausstrichen zeigten die Trypanosomen eine gewisse Verschiedenheit in Größe und Form: es fanden sich



lange schlanke und kürzere plumpe Exemplare. Die Länge der Parasiten schwankte (die Geißel eingerechnet) zwischen 19 bis 26 μ, ihre Breite zwischen 1·5 bis 2 μ. Durch subkutane Blutüberimpfungen ließen sich die Trypanosomen auf sämtliche zur Verfügung stehende Versuchstiere Rinder, Schafe, Ziegen, Hunde und Meerkatzen übertragen. Die Versuchstiere erkrankten gleichfalls an typischer Nagana. Der Parasit zeigte also die charakteristischen Eigenschaften des Trypanosoma brucei.

Da in Niansa für andere Experimente eine große Palpaliszucht unterhalten wurde, war ich in der Lage, mit gezüchteter Glossina palpalis Übertragungsversuche vorzunehmen.

Für die Erzielung einwandfreier Resultate ist es absolut erforderlich, mit im Laboratorium gezüchteten Glossinen zu arbeiten. Es sei daher hier eine Darstellung der Züchtungsmethode eingeflochten, wie sie von deutscher Seite angewandt wird. Die wild gefangenen Glossinen werden in Präparatengläsern von etwa 8·5 cm Höhe und einem Durchmesser von etwa 6·5 cm gehalten. Die Gläser sind durch Moskitonetzgaze verschlossen. In jedem Glase befinden sich eine männliche und vier weibliche Fliegen. Die männliche Fliege wird hinzugefügt, weil es sich herausgestellt hat, daß ein großer Teil der wild gefangenen Weibchen — bis zu 30 Prozent — nicht befruchtet ist. Die Fliegen werden täglich an Schafen oder Ziegen gefüttert, indem man die Gläser mit ihrer durch die Gaze verschlossenen Öffnung auf die rasierte Haut der Tiere setzt. Abgelegte Larven und Puppen werden in Rattengläsern auf einer Schicht ausgeglühten Sandes aufbewahrt. Die Gläser sind gleichfalls durch Gaze verschlossen. Die in ihnen ausgeschlüpften jungen Glossinen werden von einem Laboratoriumsboy einzeln mit der Hand herausgefangen und für Versuchszwecke zu je 4 bis 6 Exemplaren in numerierte Präparatengläser der oben geschilderten Form gesetzt.

Größte Sauberkeit der Gläser ist ein Haupterfordernis, um die Glossinen möglichst lange am Leben zu erhalten. Sämtliche Fliegen müssen daher täglich einmal, manchmal auch zweimal in reine Gläser umgesetzt werden. Das Umsetzen bietet keinerlei Schwierigkeiten. Es geschieht in der Weise, daß das schmutzige Glas, in dem sich die Fliegen befinden, mit seiner noch durch Gaze verschlossenen Öffnung auf ein sauberes, gleichfalls mit Moskitogaze bedecktes Glas gesetzt wird, so daß sich die Ränder absolut decken. Die Gaze beider Gläser wird hierauf etwas zur Seite gezogen. Die Fliegen gehen dann entweder sofort von allein in das saubere Glas oder werden durch leichtes Klopfen mit der Hand auf den Boden des oberen Glases dazu veranlaßt. Die Gläser werden in Reihen auf Holztischen liegend aufbewahrt; die Tischfüße stehen in



Schalen mit Wasser und Petroleum, um ein Hinaufkriechen von Ameisen und anderen tierischen Feinden der Glossinen zu verhindern.

Auf die geschilderte Art und Weise gelingt bei gut eingearbeitetem und beaufsichtigtem farbigen Hilfspersonal die Zucht einer großen Glossinenzahl ohne besondere Schwierigkeiten. So wurden z. B. von mir innerhalb 11 Monaten über 4000 Glossina palpalis gezüchtet.

159 Glossina palpalis wurden nun 4 Tage lang an dem kranken Maultier gefüttert. Nach eintägigem Hungern wurden sie sodann täglich einer gesunden Ziege angesetzt, und zwar so lange, bis im Blute dieser Ziege mikroskopisch Trypanosomen nachweisbar waren. Dies war am 28. Versuchstage der Fall. Am 29. und 30. Tage ließ ich sämtliche überlebenden Fliegen an einem gesunden Schafe, am 31. und 32. Tage an einem gesunden Hunde und am 33. und 34. Tage an einer gesunden Meerkatze saugen. Alle drei Tiere erkrankten mit Trypanosomen. Am 35. Versuchstage wurden die überlebenden 96 Glossinen getötet und untersucht. Hierbei wurden in dem Darmsaft zweier Glossinen Trypanosomen gefunden.

4 Glossinen, die am 18., 20., 26. und 29. Lebenstage spontan eingegangen waren, zeigten bereits ausgebildete Trypanosomen, während bei 3 Glossinen, die am 7., 14. und 16. Lebenstage starben, die Entwickelung der Trypanosomen erst im Gange war.

Die im Darmsaft gefundenen Trypanosomenformen waren die gleichen wie die von Kleine und Taute abgebildeten.

Wie erwähnt, erkrankte das erste Versuchstier, eine Ziege, am 28. Versuchstage mit Trypanosomen. Rechnet man nun eine Inkubationszeit von 7 bis 10 Tagen ab, so ergibt sich, daß die Infektion der Ziege hervorgerufen sein muß durch eine Glossine, die 18 bis 21 Tage vorher an dem kranken Maultier gesogen hatte. Diese Beobachtung stimmt mit den Angaben Kleines überein, nach denen die geschlechtliche Entwickelung der Trypanosomen in den Glossinen nicht vor dem 18. Tage beendigt ist.

Der Ausfall des Experimentes bietet einen weiteren Beitrag zu der Tatsache, daß die Glossina palpalis nicht nur der Wirt des für den Menschen so pathogenen Trypanosoma gambiense ist, sondern daß auch andere Trypanosomen in ihr ihren geschlechtlichen Entwicklungsgang durchmachen können.

Folgerichtig mußte man nun vermuten, daß auch umgekehrt die Glossina morsitans nicht nur tierische Trypanosomen, sondern auch die Trypanosomen der menschlichen Schlafkrankheit zu übertragen vermöge. Für die praktische Schlafkrankheitsbekämpfung wäre dies von schwerwiegender Bedeutung. Experimentell ließ sich diese Vermutung bisher



nicht bestätigen. Erst ganz neuerdings gelang Taute am Tanganjika in einer Reihe von Fällen die Übertragung menschlicher Trypanosomen durch gezüchtete Glossina morsitans auf Affen, während er früher am Viktoriasee bei gleichen Versuchen nur negative Resultate hatte.

Ob es sich bei seinen neuen Versuchen um dasselbe Trypanosoma handelt, welches am Viktoriasee und in Uganda die menschliche Schlafkrankheit hervorruft, muß vorläufig unentschieden bleiben.

II. Ziegentrypanosomen.

Am Rugufufluß, der sich einige Tagemärsche südlich von Udjidji in den Tanganjika ergießt, fand ich, sowie später Stabsarzt Fehlandt, bei Ziegen Trypanosomen, die zunächst durch ihre morphologischen Eigentümlichkeiten auffielen. Ich stellte das Vorkommen des gleichen Trypanosomas weiterhin beim Dorfe Rutschugi an der großen Straße Udjidji-Tabora fest. Von hier aus wurden einige infizierte Ziegen nach dem Schlafkrankenlager Niansa überführt, um dort in glossinenfreier Gegend als Ausgangsmaterial für Übertragungsversuche auf andere Tiere zu dienen. Im Verlauf dieser Versuche charakterisierte sich das Trypanosoma durch seine biologischen Eigenschaften als ein bis dahin noch unbekannter Parasit.

Die Ergebnisse der ersten Versuche sowie eine kurze Beschreibung des Trypanosoma wurden bereits als vorläufige Mitteilung veröffentlicht.[1] Seitdem wurde das Trypanosoma $1^1/_2$ Jahre hindurch weiter beobachtet und seine biologischen Eigenschaften experimentell studiert.

Im folgenden sind die Ergebnisse der Versuche zusammengefaßt:

Versuch I.

Angestellt in Niansa am 12. XII. 1909.

Von Ziege Nr. 1, bei der mikroskopisch im dicken, ungehärtet gefärbten Bluttropfen vereinzelte Trypanosomen festgestellt werden, erhalten je 5 ccm Blut subkutan: Kalb Nr. 1, Ziege Nr. 11, Schaf Nr. 12, Affe Nr. 25 und Hund Nr. 26.

Die Tabelle veranschaulicht die Ergebnisse der mikroskopischen Blutuntersuchung.

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1910. Nr. 30.



Tabelle der Blutuntersuchungen.

Nummer	Tier	17. XII. 09	18. XII. 09	19. XII. 09	20. XII. 09	21. XII. 09	22. XII. 09	23. XII. 09	26. XII. 09	1. I. 10
1	Kalb	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	Affe	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26	Hund	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	Ziege	—	—	—	Trypanosomen +	Trypan. +	Trypan. ++	Trypan. ++	Trypan. ++	Trypan. +
12	Schaf	—	—	—	—	Trypan. +	Trypan. +	Trypan. ++	Trypan. +	Trypan. ++

Versuch II.

Angestellt in Rumonge (Dr. Taute) am 10. I. 1910.

Von Ziege Nr. 2 (im dicken Tropfen zahlreiche Trypanosomen) erhalten je 4 ccm defibriniertes Blut subkutan: Hund Nr. 31, Affe Nr. 57, Ziege Nr. 20. Rind Nr. 11 erhält 10 ccm.

Tabelle der Blutuntersuchungen.

Nummer	Tier	15. I. 10	16. I. 10	17. I. 10	18. I. 10	20. I. 10	22. I. 10	24. I. 10	26. I. 10	29. I. 10
11	Rind	—	—	—	—	—	—	—	—	—
31	Hund	—	—	—	—	—	—	—	—	—
57	Affe	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	Ziege	—	—	Tryp. +	Tryp. +	Tryp. ++	Tryp. ++	Tryp. ++	Tryp. +	Tryp. ++

Versuch III.

Angestellt in Niansa am 28. XII. 1909.

Von Ziege Nr. 2 (im dicken Bluttropfen zahlreiche Trypanosomen) erhalten je 10 ccm defibr. Blut subkutan: Affe Nr. 13, Hammel Nr. 81, Hund Nr. 38, Ziege Nr. 57.

Tabelle der Blutuntersuchungen.

Nummer	Tier	2. I. 10	3. I. 10	4. I. 10	5. I. 10	6. I. 10	7. I. 10	8. I. 10	11. I. 10	14. I. 10
13	Affe	—	—	—	—	—	—	—	—	—
38	Hund	—	—	—	—	—	—	—	—	—
81	Hammel	—	—	—	—	Tryp. +	Tryp. +	Tryp. +	Tryp. ++	Tryp. +
57	Ziege	—	—	—	—	Tryp. +	Tryp. +	Tryp. ++	Tryp. ++	Tryp. ++

Versuch IV.

Angestellt in Niansa am 10. VI. 1910.

Es erhalten von Ziege Nr. 1 (im dicken Tropfen zahlreiche Trypanosomen) Rind Nr. 3 15 ccm defibr. Blut subkutan; Affe Nr. 30 und Ziege Nr. 27 je 10 ccm defibr. Blut subkutan.

Tabelle der Blutuntersuchungen.

Nummer	Tier	15. VI. 10	16. VI. 10	17. VI. 10	18. VI. 10	19. VI. 10	20. VI. 10	22. VI. 10	25. VI. 10	29. VI. 10
3	Rind	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30	Affe	—	—	—	—	—	—	—	—	—
27	Ziege	—	—	—	Tryp. +	Tryp. +	Tryp. ++	Tryp. ++	Tryp. +	Tryp. ++

Versuch V.

Angestellt in Niansa am 15. XII. 1910.

Von Ziege Nr. 11 (im dicken Tropfen zahlreiche Trypanosomen) erhalten: Kalb Nr. 5 15 ccm defibr. Blut subkutan, Ziege Nr. 220 10 ccm defibr. Blut subkutan.

Tabelle der Blutuntersuchungen.

Nummer	Tier	21. XII. 10	22. XII. 10	23. XII. 10	24. XII. 10	27. XII. 10	30. XII. 10	2. I. 11	6. I. 11	15. I. 11
5	Kalb	—	—	—	—	—	—	—	—	—
220	Ziege	—	—	—	Tryp. +	Tryp. ++	Tryp. ++	Tryp. ++	Tryp. ++	Tryp. ++

Versuch VI.

Angestellt in Niansa am 3. I. 1911.

Von Ziege Nr. 21 (im dicken Tropfen ziemlich zahlreiche Trypanosomen) erhalten: Kalb Nr. 6 15 ccm defibr. Blut subkutan, Affe Nr. 51 und Ziege Nr. 36 je 10 ccm defibr. Blut subkutan.

Tabelle der Blutuntersuchungen.

Nummer	Tier	9. I. 11	10. I. 11	11. I. 11	15. I. 11	18. I. 11	22. I. 11	26. I. 11	2. II. 11	5. II. 11
6	Kalb	—	—	—	—	—	—	—	—	—
51	Affe	—	—	—	—	—	—	—	—	—
36	Ziege	—	—	Tryp. +	Tryp. ++	Tryp. ++	Tryp. ++	Tryp. ++	Tryp. ++	Tryp. +

Versuch VII.

Angestellt in Niansa am 6. II. 1911.

Von Ziege Nr. 21 (im dicken Tropfen zahlreiche Trypanosomen) erhalten: Kalb Nr. 7, Hund Nr. 4 und Nr. 6 je 15 ccm defibr. Blut subkutan; Hunde Nr. 12, 17, 29 und Ziege Nr. 247 je 10 ccm defibr. Blut subkutan.

Tabelle der Blutuntersuchungen.

Nummer	Tier	11. II. 11	12. II. 11	13. II. 11	16. II. 11	19. II. 11	22. II. 11	27. II. 11	2. III. 11	5. III. 11
7	Kalb	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	Hund	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	„	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	„	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	„	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29	„	—	—	—	—	—	—	—	—	—
247	Ziege	—	—	Tryp. +	Tryp. + +	Tryp. + + +	Tryp. + +	Tryp. + +	Tryp. +	Tryp. + +

In sämtlichen Versuchen wurde das Blut aller Versuchstiere bis zu 3 Monaten in regelmäßigen Zwischenräumen von 2 bis 3 Tagen mikroskopisch (dicker Tropfen) untersucht.

Trypanosomen wurden stets nur bei Ziegen und Schafen gefunden.

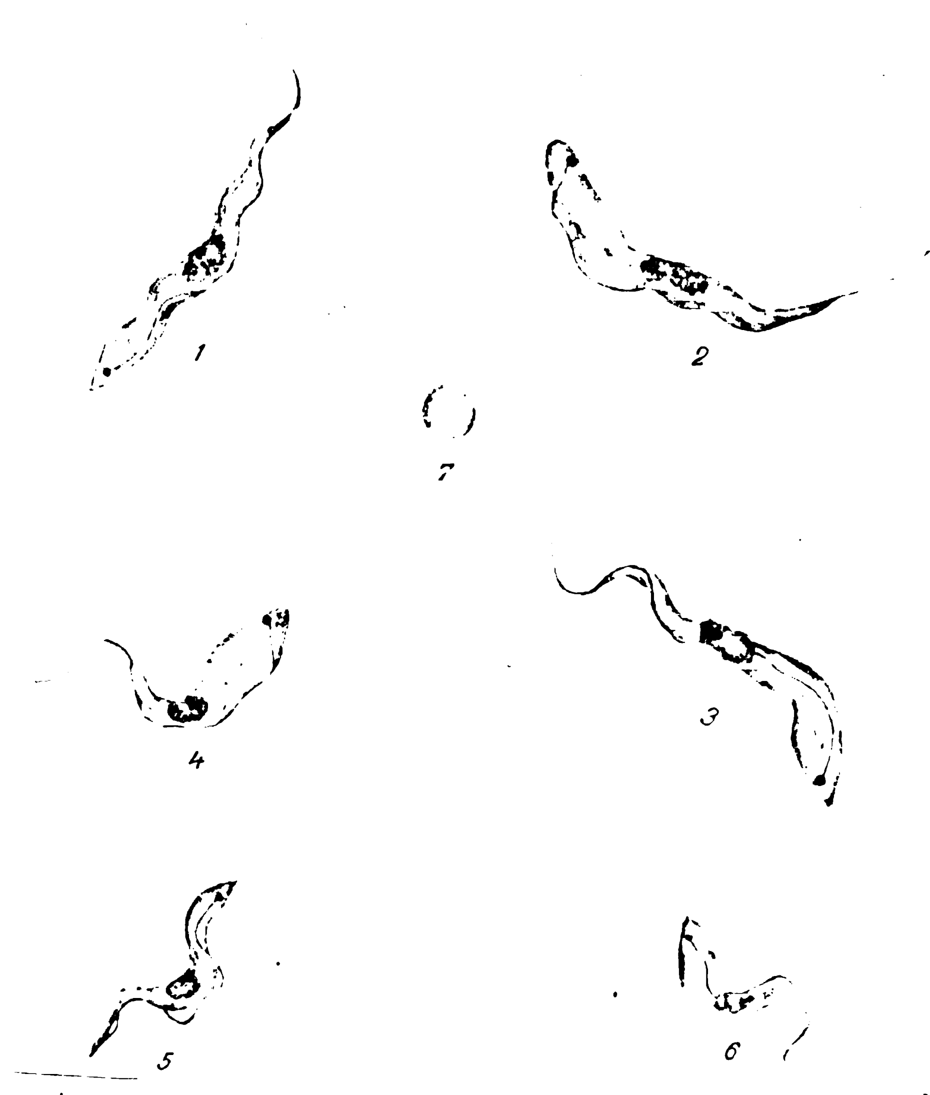
Außer diesen aufgeführten Versuchen wurden noch eine ganze Anzahl Übertragungsversuche mit gleichem Ergebnis ausgeführt, die aber in die Zusammenstellung nicht mit aufgenommen sind, weil bei ihnen aus äußeren Gründen die einzelnen Versuchstiere nicht so lange Zeit beobachtet werden konnten.

Fehlandt kam bei Übertragungsversuchen in Bismarckburg, am Südende des Tanganjika, gleichfalls zu dem Resultat, daß nur Ziegen und Schafe für das Trypanosoma empfänglich sind.

Bei der mikroskopischen Betrachtung von nach **Romanowsky** gefärbten Blutausstrichen stellt sich das Trypanosoma in seinem Grundtypus als ein Parasit von ziemlich erheblicher Länge dar (vgl. Figg. 1, 2, 7 und 3). Die Länge dieser Form beträgt durchschnittlich 31 μ, ihre Breite 2·5 bis 3·0 μ. Das Trypanosoma ist im Verhältnis zu seiner Länge ziemlich breit, namentlich in den hinteren zwei Dritteln seines Plasmaleibes. Sein hinteres Ende ist entweder abgerundet oder lanzettförmig zugespitzt. Der große runde oder längsovale Kern liegt gewöhnlich auf der Grenze zwischen vorderem und mittlerem Drittel des Körpers. Der vorwiegend runde Blepharoplast liegt unweit des Hinterendes. Undulierende Membran und



Geißel sind gut ausgebildet, letztere überragt den Körper um $^1/_3$ bis $^1/_2$ seiner Länge. Außer dieser, wie erwähnt häufigsten Form, finden sich, und zwar vorwiegend am Beginn der Infektion kleinere Trypanosomen ohne freie Geißel oder mit kurzer Geißel. Ihre durchschnittliche Länge beträgt 18 bis 20 μ, ihre Breite 2·0 bis 2·5 μ. Ganz vereinzelt kommen auch runde Formen ohne freie Geißel zur Beobachtung. Übergangsformen zwischen langen und runden Typen sind gleichfalls vorhanden (vgl. Figg. 5, 6 und 4).



Anmerkung. Die beigegebenen Figuren wurden von mir unter Verwendung von Zeiss-Apochromat 2 mm, Kompensations-Okular 8, mit dem Zeichenapparat nach Abbé auf die Tischplatte entworfen. Nach Messung mit dem Objektmikrometer kam hierdurch eine Vergrößerung von etwa 1 : 1600 zustande.

In den ersten Tagen ihres Auftretens im Blute finden sich die Trypanosomen nur spärlich. Späterhin sind sie sehr zahlreich. Im weiteren Verlauf ist ihre Zahl dann eine sehr wechselnde. Oft verschwinden sie für Tage und Wochen gänzlich oder sind doch so selten, daß man erst nach längerem Suchen im dicken Tropfen einige Exemplare entdeckt. Im frischen Blutpräparat zeigen die Trypanosomen eine lebhafte Beweglichkeit und gehen quer durch das Gesichtsfeld.

Das Vorkommen zweier so ungleich großer Trypanosomen könnte den Gedanken an eine Mischinfektion nahelegen. Dem widerspricht jedoch der stets gleichmäßige Ausfall der Versuche. Handelte es sich um eine Mischinfektion, so müßte man erwarten, daß eine der beiden Trypanosomenformen, außer auf Ziegen und Schafen, auch auf andere Tierarten übertragbar wäre. Da man wohl nicht ohne weiteres annehmen kann, daß es zwei verschiedene nur für Ziegen und Schafe pathogene Trypanosomen gibt.

Die Krankheit verläuft bei den infizierten Ziegen und Schafen sehr chronisch. Einzelne Ziegen standen über 1½ Jahre unter Beobachtung, ohne daß an ihnen außer allmählich zunehmender Abmagerung und Struppigwerden des Felles besondere Krankheitssymptome bemerkbar gewesen wären. Die Inkubationszeit beträgt 7 bis 10 Tage.

Als Überträger des Trypanosoma muß unter natürlichen Verhältnissen die Glossina morsitans angesprochen werden. Denn an den Orten, wo es gefunden wurde, kam eine andere Glossinenart nicht in Betracht. Übertragungsversuche mit im Laboratorium gezüchteten Fliegen stellte ich bisher nicht an.

Als wichtigstes Ergebnis der beschriebenen Versuche und Beobachtungen sei nochmals hervorgehoben, daß sich das Trypanosoma nur auf Ziegen und Schafe übertragen läßt. Wegen dieser Eigenschaft dürfte es ein besonderes Interesse beanspruchen; zeigen doch nur wenige der bisher bekannten Säugetiertrypanosomen eine derartige Beschränkung ihrer Pathogenität. Kleine nannte deshalb das Trypanosoma: Trypanosoma caprae.



Literatur-Verzeichnis.

1. R. Koch, F. K. Kleine, M. Beck, *Bericht über die Tätigkeit der zur Erforschung d. Schlafkrankheit in Deutsch-Ostafrika entsandten Expedition.* 1906/07.

2. *Bulletin of the Sleeping sickness bureau.* Dezember 1908. Nr. 2. — 1909. Nr. 12.

3. F. K. Kleine, Positive Infektionsversuche mit Trypanosoma brucei durch Glossina palpalis. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 11.

4. Derselbe, Weitere wissenschaftliche Beobachtungen über die Entwicklung von Trypanosomen in Glossinen. *Ebenda.* 1909. Nr. 21.

5. Derselbe, Weitere Untersuchungen über die Ätiologie der Schlafkrankheit. *Ebenda.* 1909. Nr. 27.

6. Derselbe, Weitere Beobachtungen über Tsetsefliegen und Trypanosomen. *Ebenda.* 1909. Nr. 45.

7. Derselbe, Trypanosomenbefunde am Tanganjika und andere Beobachtungen. *Ebenda.* 1910. Nr. 30.

8. F. K. Kleine und M. Taute, *Trypanosomenstudien.* Berlin 1911.

9. Fehlandt, Untersuchungen über Trypanosomen. *Inaugural-Dissertation.* Leipzig 1911.



[Aus dem Allgemeinen Krankenhaus Hamburg-Eppendorf.]
(Medizinische Abteilung: Oberarzt Dr. Reiche.)

Bakteriologische Untersuchungen des Liquor cerebrospinalis bei Diphtherie.

Von

Dr. **William Leede.**
Assistenzarzt.

Das überraschende Ergebnis der Bonhoffschen[1] bakteriologischen Untersuchungen des Liquor cerebrospinalis an Diphtherie Verstorbener war für mich Anlaß, an dem großen Diphtheriematerial unserer Abteilung gleiche Untersuchungen vorzunehmen, sowohl an Lebenden, als an soeben Verstorbenen.

Bonhoff fand bei 17 Diphtherieleichen, denen er gewöhnlich 24 bis 36 Stunden nach dem Tode aus der Schädelhöhle unter sterilen Kautelen Liquor cerebrospinalis entnahm, 9 mal Diphtheriebazillen. Das Herzblut, wie es bei der Autopsie am hiesigen pathologisch-anatomischen Institut kulturell untersucht wird, war in jedem dieser positiven Fälle frei von Löfflerbazillen.

Bonhoff bemerkt vermutungsweise, daß die später auftretenden postdiphtherischen Lähmungen durch das Vorhandensein der Löfflerbazillen im Liquor verursacht werden möchten, und auffällig ist ja das Überwiegen der positiven Resultate dieser kleinen Untersuchungsreihe. Da nur in einem dieser Fälle eine Bakteriämie durch polgefärbte Stäbchen bestand, so müßte man für einen Teil derselben vielleicht annehmen, daß durch die Nase, die Lamina cribrosa oder durch den inneren Gehörgang eine Einwanderung von Bazillen in die Schädelhöhle erfolgte.

[1] Bonhoff, Über das Vorkommen von virulenten Diphtheriebazillen im Blut und in der Cerebrospinalflüssigkeit beim Menschen. *Diese Zeitschr.* 1910. Bd. LXVII.



Um nun über den Zeitpunkt dieser Einwanderung Anhaltspunkte zu gewinnen, habe ich sofort nach dem Tode an 57 Leichen den Liquor mit der Luerschen Spritze entnommen, unter diesen bei 21 aus der Schädelhöhle, an derselben Stelle, an welcher Bonhoff sein Material gewann. Leider konnten aus äußeren Gründen die Kontrolluntersuchungen bei der durchschnittlich 24 bis 36 Stunden nach dem Tode erfolgten Autopsie nicht ausgeführt werden. Immerhin glaube ich durch meine Untersuchungen Anhaltspunkte gewonnen zu haben, daß intra vitam nur außerordentlich selten Diphtheriebazillen sich im Liquor finden. Ich lasse es dahingestellt, wie Bonhoffs so häufigen Resultate zu erklären sind; man kann an ein eventuell nach dem Tode erfolgtes Eindringen in die Schädelhöhle denken und auch an die immerhin nicht ganz einwandfreie Entnahmetechnik.

Bei den post mortem untersuchten Fällen habe ich gewöhnlich 10 Minuten nach dem Tode den Liquor aspiriert, in der weitaus größten Zahl an der von Quincke angegebenen Stelle.

Als ich gelegentlich einer Punktion einen mit Blut durchsetzten Liquor erhielt und es einen Fall betraf, auf dessen Untersuchung ich besonderen Wert legte, entnahm ich kurz danach noch Cerebrospinalflüssigkeit aus der Schädelhöhle und gewann hier sogar 40 ccm ohne Blutbeimengung.

Dies war der Anlaß, in den folgenden 20 Fällen stets aus der Schädelhöhle, die durchschnittlich eine größere Menge liefert als die Lumbalgegend, die Punktion vorzunehmen. Die Technik ist kurz die folgende: Der Kopf der in Seitenlage gebrachten Leiche wird stark nach vorn gebeugt, die Nackengrube desinfiziert. Hart über der Mitte des Atlas eingehend, gelangt man, die mit Mandrin versehene Kanüle etwas nach oben führend, in entsprechender Tiefe durch das Foramen magnum in die Schädelhöhle. Gewöhnlich quillt der Liquor unter mäßigem Druck hervor und kann man durch freies Abfließenlassen oder durch Aspiration mit der Luerschen Spritze genügende Mengen erhalten. Von Interesse ist, daß öfters der Liquor bei der Entnahme an der Leiche sehr schnell abtropfte, sogar den Stempel der Luerschen Spritze schnell empordrückte und unter sehr hohem Druck zu stehen schien. Da ich das ganze Material zur bakteriologischen Untersuchung verwenden wollte, mußte ich leider von Druckmessungen und Lymphozytenbestimmungen absehen. Ob vielleicht durch wiederholte Lumbalpunktionen in einzelnen Fällen therapeutische Erfolge erzielt werden können, müssen weitere Untersuchungen erweisen.

Auffallend war, daß Hirndrucksymptome, abgesehen von ständigem Erbrechen infolge der schweren Debilitas cordis, oder meningitische Er-

scheinungen gar nicht beobachtet wurden. Wohl bestanden leichte Kopfschmerzen, die nach der Punktion schwanden. Bei der Lumbalpunktion am Lebenden tropfte die Cerebrospinalflüssigkeit gewöhnlich sehr schnell ab, es schien also in einzelnen Fällen eine recht beträchtliche Druckerhöhung im Lumbalsack zu bestehen. Ich habe den Grad der Druckerhöhung schätzungsweise durch + (schwach), ++ (mittelstark) und +++ (stark) bei der tabellarischen Zusammenstellung wiedergegeben. Das Sensorium war bei fast allen Fällen beider Untersuchungsreihen noch wenige Stunden vor dem Exitus frei.

In der Tabelle I sind unter den 33 untersuchten Fällen eine Reihe, welche an späten Krankheitstagen standen und zum Teil sehr schwere ausgedehnte postdiphtherische Paresen zeigten. Man durfte bei letzteren einige positive Resultate erwarten, wenn die Vermutung Bonhoffs sich bewahrheiten sollte.

Die intra vitam gewonnenen absolut klaren Liquormengen betrugen gewöhnlich 10 bis 15 ccm, nur in einem Falle mußte ich nach Ablassen von weniger als 1 ccm die Punktion unterbrechen, da der Kranke außerordentlich unruhig wurde. An der Leiche erhielt ich öfters bis zu 40 ccm klaren blutfreien Liquor, der nur einigemal fein flockig getrübt war, in der Kultur absolut steril blieb. Vereinzelt war die Flüssigkeit mit Blut untermischt und ich verwertete nur dann diese, wenn sowohl die gleich nach dem Tode vorgenommene Herzpunktion als die anatomische Untersuchung bei der Autopsie ein steriles Blut ergab.

Die Hälfte des gewonnenen Liquors wurde mit Bouillon zu gleichen Teilen vermengt, die andere Hälfte ohne Zusatz belassen, beide Röhrchen wurden dann in den Brutschrank gestellt. Nach je 24 Stunden wurde aus beiden Röhrchen reichlich auf Blut- und Hammelserumagarplatten ausgestrichen. War der Liquor infiziert, so wuchsen schon nach 24 Stunden, spätestens nach 3 mal 24 Stunden Kolonien, die dann in der üblichen Weise identifiziert wurden. Als negativ betrachtete ich erst dann das Untersuchungsmaterial, wenn nach mehrmaligem Abimpfen keine Kolonien wuchsen.

Die untersuchten Fälle sind nach dem Alter und nach der in der Medizinalstatistik des Hamburgischen Medizinalwesens früher üblichen Altersklasseneinteilung geordnet. Sodann sind in den einzelnen Rubriken verzeichnet der Krankheitstag bei der Aufnahme, die bei derselben vorhandenen und später hinzugetretenen Komplikationen, die Temperaturen am Einlieferungstag und vor der Lumbalpunktion.

Ferner sind die Menge des gewonnenen Liquors und der Druck, unter welchem dieser stand, notiert. In den letzten Spalten endlich sind der bakteriologische Ausfall der Untersuchungen und der Ausgang der Krank-



heit vermerkt, bei den Toten auch das Resultat der Herzblutuntersuchung, wie sie unmittelbar nach dem Tode von mir auf der „klinischen“ Abteilung und durchschnittlich 24 bis 36 Stunden später bei der Autopsie im pathologischen Institut ausgeführt wurde.

Sowohl intra vitam als post mortem wurde der Liquor cerebrospinalis in 6 Fällen untersucht, auf welche ich später noch zurückkomme.

Zusammenfassend finden wir in den Fällen der Tabelle I, daß 18 Kranke in den ersten drei Krankheitstagen, die übrigen 15 an späteren eingeliefert wurden; von diesen 33 kamen 19 ad exitum. Durchweg handelte es sich um allerschwerste Fälle, wie aus den begleitenden Komplikationen ersichtlich, war doch die Nase 26 und der Kehlkopf 10 mal ergriffen. Von den Larynxstenosen mußten 5 tracheotomiert werden. Ferner wurden je 1 Fall von schweren diphtherischen Belägen des äußeren Gehörganges und der Zunge, 2 schnell letal verlaufende hämorrhagische Diathesen und 3 Bronchopneumonien beobachtet.

Auf den Krankheitstag wurde bei der Liquorentnahme besonderes Gewicht gelegt, und einerseits solche Fälle gewählt, die auf der Höhe der Erkrankung standen, andererseits solche, welche zum Teil sehr schwere postdiphtherische Lähmungen zeigten (12 Fälle). In der ersten Krankheitswoche wurden 19, in der zweiten 13 und an späteren Krankheitstagen 4 lumbal punktiert.

In sämtlichen Fällen blieb der Liquor steril.

Von den 57 Fällen der Tabelle II war über die Hälfte, nämlich 35, in den ersten drei Erkrankungstagen eingeliefert worden. Sehr hohe, vorwiegend intravenöse und in den folgenden Tagen wiederholte subkutane Serumgaben blieben in einer Reihe von Fällen scheinbar ohne irgend einen Einfluß auf das Fortschreiten der diphtherischen Beläge. Auch hier sehen wir das Lebensalter bis zum 5. Jahr am schwersten betroffen.

In dieser zweiten Untersuchungsreihe wurden in der ersten Erkrankungswoche 30, in der zweiten 14 und an späteren Tagen 13 Lumbalpunktionen ausgeführt. Dabei zeigte sich, daß unter den 30 Fällen der ersten Woche 9, unter den 14 der zweiten Woche 5 und unter den 13 späteren Entnahmetermins 2 ein positives bakteriologisches Resultat ergaben. In den ersten 2 Krankheitswochen finden wir also am häufigsten kurz nach dem Tode einen bazillenhaltigen Liquor cerebrospinalis.

Auch hier sehen wir die Nase 37 mal, den Kehlkopf 27 mal ergriffen, 13 Fälle mußten tracheotomiert werden, und bei 13 war bei der Aufnahme schon vorhanden oder trat in den ersten Tagen des Krankenhausaufenthaltes hinzu eine schwere, schnell letal verlaufende hämorrhagische



Tabelle I.

Lumbalpunktionen am Lebenden.

Lfde. Nr.	Protokoll-nummer	Name, Alter, Geschlecht	Krankheits-tag bei der Aufnahme	Befund bei der Aufnahme	Schwere des Falles	Temp. bei der Aufn.	Kompli-kationen im Verlauf	Krankheitstag u. Temperatur bei Lumbal-punktion	Druck und Menge des Liquors	Bakterio-logisches Resultat	Ausgang und Krank-heitstag
					Gruppe I: bis 1 Jahr.						
1	14190/10	P. 10 Mon. ♀	?	Nase, Ohren	schwer	39·2	Urämie	28. 37·4	++ 5 ccm	steril	† 29. Krankenhaus-aufenthalt
					Gruppe II: 1—5 Jahre.						
2	17 907/10	K. 3 J. ♀	5	Nase	schwer	38·8	—	8. 37·0	+ 3 ccm	steril	† 9.
3	16 965/10	L. 5 J. ♂	8	„	„	36·4	—	9. 36·4	+ 5 „	„	† 9.
4	1529/11	S. 5 J. ♂	4	Nase	schwer	38·3	—	8. 37·2	+++ 5 „	steril	† 10.
					Gruppe III: 5—15 Jahre.						
5	1 675/11	S. 7 J. ♀	3	Nase	schwer	38·6	–	4. 38·9	++ 10 ccm	steril	† 19.
6	1 657/11	B. 8 J. ♂	3	—	schwer	38·3	Nase, Paresen	6. 38·0	+++ 10 „	steril	geheilt 62.
7	17 005/10	S. 9 J. ♀	3	Nase, Larynx	„	38·4	Hämorrhag. Diathese	7. 40·0	+ 3 „	„	† 10.
8	21 938/10	F. 11 J. ♂	10	Nase	„	36·3	—	10. 36·3	++ 6 „	„	† 10.
9	19 968/10	K. 12 J. ♀	3	„	„	39·4	—	7. 37·4	++ 5 „	„	† 11.
10	1 628/11	B. 12 J. ♂	4	„	„	37·6	Paresen	6. 38·2	+++ 10 „	„	geheilt 64.
11	13 481/10	H. 13 J. ♀	2	„	„	40·0	Hämorrhag. Diathese	6. 36·4	++ 5 „	„	† 7.
12	3 556/11	O. 14 J. ♂	4	Nase	schwer	39·2	—	5. 38·2	+++ 10 „	steril	† 10.
13	7 164/11	J. 14 J. ♀	3	„	„	37·8	—	4. 38·6	++ 5 „	„	† 12.
14	271/11	K. 15 J. ♀	3	Nase, Larynx	schwer	40·2	Pneumonie Tracheotomie	6. 40·2	+++ 12 „	steril	† 9.

Gruppe IV: 15—25 Jahre.

15	21 687/10	S.	16 J. ♀	3	Nase, Zunge	schwer	38·8	Paresen	6.	38·4	+ + +	10 ccm	steril	geheilt	85.
16	1 117/11	P.	17 J. ♀	7	Nase, Larynx	„	39·9	„	7.	39·9	+ + +	10 „	„	geheilt	77.
17	742/11	H.	17 J. ♀	2	—	„	39·2	Nase, Rezidiv, Paresen	6.	37·8	+	10 „	„	geheilt	69.
18	21 780/10	B.	17 J. ♂	4	Nase	„	39·0	—	5.	40·5	+	4 „	„	†	18.
19	11 776/10	S.	20 J. ♂	42	Paresen	„	38·0	—	90.	36·4	+ + +	10 „	„	geheilt	133.
20	13 078/10	B.	20 J. ♀	2	Nase, Larynx	„	40·3	Tracheotomie	8.	38·9	+ + +	10 „	„	†	10.
21	19 717/10	F.	22 J. ♂	3	„	„	37·8	Paresen	10.	37·0	+ +	10 „	„	geheilt	65.
22	22 154/10	D.	22 J. ♂	4	„	„	38·0	—	10.	36·0	—	1/2 „	„	†	12.
23	1 297/11	L.	22 J. ♀	3	Nase	schwer	38·8	Paresen	4.	38·6	+ + +	10 „	steril	†	43.
24	22 176/10	T.	22 J. ♀	3	—	„	38·6	Pneumonie, Nase	6.	40·2	+ + +	10 „	steril	geheilt	75.
25	3 543/11	E.	23 J. ♀	4	—	„	38·8	Paresen	5.	37·6	+ + +	15 „	„	geheilt	100.

Gruppe V: 25—50 Jahre.

26	22 381/10	F.	29 J. ♂	3	—	schwer	39·2	Nase, Delirium, Paresen	6.	40·0	+ +	10 ccm	steril	geheilt	118.
27	400/11	M.	29 J. ♂	3	—	„	38·0	Nase, Paresen	9.	37·4	+ + +	10 „	„	geheilt	150.
28	13 811/10	H.	30 J. ♂	2	—	„	38·9	Paresen	52.	38·0	+ + +	10 „	„	geheilt	94.
29	13 110/11	L.	31 J. ♀	4	Larynx, Nephritis	„	39·4	—	9.	37·9	+ +	10 „	„	†	22.
30	3 359/11	T.	32 J. ♀	5	Nase, Larynx	schwer	38·0	Tracheotomie	7.	39·0	+ + +	10 „	steril	†	12.
31	20 679/10	M.	37 J. ♀	6	Larynx	schwer	38·8	Pneumonie, Tracheotomie	7.	38·4	+ + +	10 „	steril	†	31.
32	21 163/10	P.	38 J. ♀	2	„	„	39·2	Tracheotomie	8.	38·9	+ + +	10 „	„	geheilt	140.
33	6 944/11	P.	38 J. ♀	7	—	„	40·2	—	15.	37·2	+ + +	10 „	„	geheilt	65.



Tabelle II.

Lumbalpunktionen an der Leiche.

Abkürzungen: Str. pyo. = Streptococcus pyogenes. Staph. aur. = Staphylococcus aureus. Bact. coli = Bacterium coli. Dipl. lanc. = Diplococcus lanceolatus. Di.-B. = Bacillus diphtheriae. * = Die Punktion wurde in der Nackengrube vorgenommen.

Lfde. Nr.	Protokoll-nummer	Name, Alter, Geschlecht	Krankheitstag bei der Aufnahme	Befund bei der Aufnahme	Schwere des Falles	Temperatur bei Aufnahme	Komplikationen im Verlauf	Tag des Exitus und letzte Temperatur	Menge des gewonnenen Liquors	Bakteriologisches Resultat	Bakteriol. Untersuchung des Herzblutes sofort post mortem	Anatomischer Blutbefund
				Gruppe II: 1—5 Jahre.								
1	5139/11	M. $1^{1}/_{2}$ J. ♂	4.	Nase, Larynx	schwer	38·8	Tracheotomie	6. 38·6	10 ccm	Str. pyo.	zahllos Str. pyo.	zahllos Str. pyo.
2	4556/11	B. $1^{3}/_{4}$ J. ♀	5.	Nase, Larynx	„	37·4	Tracheotomie	9. 38·8	8 „	steril	zahllos Str. pyo.	steril
3	3315/11	R. $1^{3}/_{4}$ J. ♂	2.	Nase	„	38·0	Rezidiv, Larnyx, Tracheotomie	24. 39·4	8 „	„	steril	zahllos Str. pyo.
4	4279/11	H. $1^{3}/_{4}$ J. ♀	3.	Nase, Konjunktiven	„	38·7	—	4. 37·0	5 „	„	steril	steril
5	4756/11	D. $1^{8}/_{4}$ J. ♂	2.	Nase, Larynx	„	39·2	—	3. 40·2	10 „	„	spärlich Str. pyo.	zahllos Str. pyo. u. Staph. aureus
6	3373/11	B. 2 J. ♂	3.	Nase, Larynx	„	39·0	Tracheotomie	5. 40·0	7 „	„	steril	zahllos Str. pyo.
7	5522/11	M. 2 J. ♀	1.	Nase	„	37·9	Hämorrhag. Diathese	10. 35·9	10 „	„	zahlreich Str. pyo.	zahllos Str. pyo.
8	5138/11	H. 2 J. ♀	2.	Trachea	„	38·4	Broncho-pneumonie, Tracheotomie	12. 40·4	3 „	Str. pyo.	in Bouillon Str. pyo.	zahlreich Str. pyo.
9	3435/11	B. 2 J. ♀	4.	Nase	„	36·8	—	7. 37·4	7 „	steril	zahlreich Str. pyo.	zahllos
10	2568/11	G. [illegible]	[illegible]	[illegible]							Str. pyo.	Str. pyo.

11	8086/11	R.	2½ J.♂	1.	Nase, Larynx	„	39·2	Pneumonie	5.	40·0	10 „	steril	zahlreich Str. pyo.	zahllos Str. pyo.
12	5758/11	G.	3 J. ♀	3.	—	„	38·4	—	12.	36·9	10 „*	„	in Bouillon Str. pyo.	zahllos Str. pyo.
13	6573/11	S.	3 J. ♀	4.	—	„	38·0	—	7.	38·6	15 „*	„	steril	mehrere Kolonien, Staph. aureus
14	5232/11	N.	3 J.♂	2.	Nase	„	36·9	—	29.	37·0	15 „*	„	steril	steril
15	7856/11	M.	3 J. ♀	3.	Haut	„	40·2	Hämor-rhagische Diathese	6.	40·4	6 „*	Pneumo-kokken	—	zahlreich Staph. aureus
16	5887/11	G.	3 J. ♀	2.	Nase	„	37·8	Broncho-pneumonie	33.	39·0	6 „*	Str. pyo.	in Bouillon Str. pyo.	zahlreich Str. pyo. + Dipl. lanc.
17	5976/11	H.	3 J. ♀	8.	Nase, Larynx	„	38·2	Haut, hämor-rhagische Diathese	13.	38·2	10 „*	steril	steril	zahllos Str. pyo.
18	3425/11	P.	3½ J.♂	3.	Nase, Larynx, hämor-rhagische Diathese	„	38·0	—	4.	39·8	10 „	„	steril	steril
19	2974/11	S.	3½ J. ♀	2.	Nase	„	36·4	Paresen	46.	39·0	6 „*	„	steril	steril
20	3951/11	A.	3½ J. ♀	3.	Nase, Larynx	„	38·8	—	4.	38·2	10 „	Str. pyo. + Di.-Bac.	zahllos Str. pyo. — spärlich Di.-Bac.	4 Kolonien Str. pyo. — vereinzelt Di.-Bac.
21	4280/11	A.	4 J.♂	3.	Nase	„	37·8	—	16.	36·9	12 „	steril	in Bouillon Str. pyo.	zahllos Str. pyo.
22	5324/11	H.	4 J. ♀	4.	Nase	„	38·0	Hämor-rhagische Diathese	21.	39·0	10 „*	„	steril	steril
23	3747/11	A.	4 J. ♀	4.	Nase	„	38·6	—	4.	38·2	10 „	Str. pyo.	zahlreich Str. pyo.	zahllos Str. pyo. — 4 Kolonien Staph. aur.

Tabelle II (Fortsetzung).

Lfde. Nr.	Proto-koll-nummer	Name, Alter, Geschlecht	Krankheitstag bei der Aufnahme	Befund bei der Aufnahme	Schwere des Falles	Temperatur bei Aufnahme	Kompli-kationen im Verlauf	Tag des Exitus und letzte Temperatur	Menge des gewonnenen Liquors	Bakterio-logisches Resultat	Bakteriolog. Untersuchung des Herzblutes sofort post mortem	Anatomischer Blutbefund
				Gruppe II: 1—5 Jahre.								
24	4839/11	R. 4 J. ♂	3.	Nase, Larynx	schwer	37·4	Tracheotomie	5. 39·0	10 ccm	Str. pyo.	zahllos Str. pyo. Di.-B. spärlich	zahllos Str. pyo.
25	5868/11	S. 4 J. ♂	2.	„	„	88·6	Hämorrhag. Diathese	5. 37·4	12 „*	„	zahlreich Str. pyo.	„
26	7722/11	S. 4 J. ♂	2.	Larynx	„	39·4	Tracheotomie	3. 36·9	40 „*	steril	steril	steril
27	3532/11	F. 5 J. ♂	3.	„	„	39·6	„	4. 40·0	8 „	„	spärlich Str. pyo.	zahllos Str. pyo.
28	2220/11	B. 5 J. ♀	6.	Nase, Larynx, Darmdiphth., hämorrhag. Diathese	„	36·9	—	10. 89·0	10 „	„	steril	steril
29	4728/11	L. 5 J. ♀	3.	Nase, Larynx	„	87·4	Tracheotomie	4. 38·0	10 „	Str. pyo. + Di.-Bac.	in Bouillon Str. pyo. Di.-Bac.	6 Kolonien Di.-Bac.
30	.1529/11	S. 5 J. ♂	4.	Nase	schwer	38·3	—	10. 37·4	8 „	Str. pyo.	zahllos Str. pyo.	zahllos Str. pyo.
31	7411/11	W. 5 J. ♀	2.	Larynx	schwer	39·4	Broncho-pneumonie	13. 40·2	9 „*	Str. pyo.	zahllos Str. pyo.	steril
32	7741/11	A. 5 J. ♀	5.	Nase, hämorrhag. Diathese	„	37·2	—	7. 36·4	40 „*	steril	steril	„

Gruppe III: 8–15 Jahre.

33	5908/11	R.	6 J. ♀	8.	Nase	schwer	39·0	—	4.	37·4	10 „	steril	steril	8 Kolonien Str. pyo.
34	4541/11	B.	6 J. ♂	6.	Nase, Larynx, hämorrhag. Diathese	„	37·2	—	8.	35·6	8 „	Str. pyo. + Di.-Bac.	in Bouillon Str. pyo. Di.-Bac.	zahllos Str. pyo. Di.-Bac.
35	6558/11	B.	6 J. ♀	30.	Paresen	„	36·9	—	30.	36·8	10 „	steril	steril	steril
36	5322/11	S.	6 J. ♀	7.	—	„	37·6	—	7.	37·6	4 „	Str. pyo.	—	zahlreich Str. pyo.
37	1675/11	S.	7 J. ♀	3.	Nase	schwer	38·6	—	19.	36·4	10 „	steril	spärlich Str. pyo.	zahllos Str. pyo.
38	5346/11	G.	8 J. ♂	57.	Paresen	schwer	37·2	—	58.	37·8	10 „	steril	steril	steril
39	4752/11	B.	8 J. ♂	3.	—	„	39·6	—	11.	36·5	10 „	Str. pyo.	in Bouillon Str. pyo.	„
40	3759/11	T.	8 J. ♀	4.	Nase	„	38·6	—	9.	37·0	15 „	steril	vereinzelt Str. pyo.	zahllos Str. pyo.
41	2219/11	S.	8 J. ♀	6.	Nase, Larynx	„	37·6	Hämorrhag. Diathese	20.	36·5	15 „	„	steril	zahllos Str. pyo.
42	2760/11	H.	8 J. ♂	5.	Nase, Larynx hämorrhag. Diathese	„	37·0	—	6.	36·8	6 „	„	„	— 3 Kolonien Staph. aur. mehrere Kol. Str. pyo. — 2 Kolonien Di.-Bac.
43	5911/11	R.	8 J. ♂	3.	Nase	„	36·9	Hämorrhag. Diathese	5.	37·8	12 „*	„	„	10 Kolonien Staph. aur.
44	8380/11	B.	10 J. ♀	2.	—	„	40·1	—	2.	40·1	12 „*	„	spärlich Str. pyo.	steril
45	2637/11	L.	10 J. ♀	2.	Nase, Haut	„	38·8	Hämorrhag. Diathese	5.	36·4	8 „	Str. pyo.	zahllos Str. pyo.	zahllos Str. pyo.
46	7358/11	P.	12 J. ♂	6.	Larynx	„	39·6	—	6.	39·0	10 „*	steril	zahlreich Str. pyo.	zahll. Str. pyo. u. Di.-Bac.
47	6146/11	M.	14 J. ♂	2.	—	„	39·6	Broncho-pneumonie	6.	39·6	15 „*	„	steril	steril
48	7164/11	J.	14 J. ♀	3.	Nase	schwer	37·8	—	12.	37·2	40 „*	steril	zahllos Str. pyo.	steril
49	3556/11	O.	14 J. ♂	4.	„	„	39·2	—	10.	36·8	5 „	„	steril	„

Tabelle II. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Protokollnummer	Name, Alter, Geschlecht	Krankheitstag bei der Aufnahme	Befund bei der Aufnahme	Schwere des Falles	Temperatur bei Aufnahme	Komplikationen im Verlauf	Tag des Exitus und letzte Temperatur	Menge des gewonnenen Liquors	Bakteriologisches Resultat	Bakteriol. Untersuchung des Herzblutes sofort post mortem	Anatomischer Blutbefund
Gruppe IV: 15—25 Jahre.												
50	3642/11	H. 16 J. ♀	2.	—	schwer	39·2	Larynx, Tracheotomie	7. 40·4	15 ccm	steril	zahlreich Str. pyo.	zahllos Str. pyo.
51	6356/11	O. 18 J. ♂	3.	—	„	37·4	Pylephlebitis	27. 38·9	5 „*	Str. pyo. Bact. coli	in Bouillon Str. pyo. Bact. coli	zahllos Bact. coli
52	7426/11	S. 21 J. ♀	3.	Nase, Larynx	„	39·6	—	5. 39·6	12 „*	steril	steril	steril
53	1297/11	L. 22 J. ♀	3.	Nase	schwer	38·6	Paresen	43. 37·0	15 „	steril	zahlreich Str. pyo.	1 Kolonie Str. pyo., 1 Kolonie Staph. aur.
54	6513/11	A. 23 J. ♂	6.	—	schwer	38·6	—	6. 39·2	15 „*	steril	steril	steril
55	8517/11	H. 23 J. ♂	3.	Larynx	„	40·2	Tracheotomie	3. 40·0	6 „*	steril	—	steril
Gruppe V: 25—50 Jahre.												
56	3359/11	T. 32 J. ♀	5.	Nase, Larynx	schwer	38·0	Tracheotomie	12. 38·5	10 ccm	steril	vereinzelt Str. pyo.	zahlreich Str. pyo. Bact. coli
57	4762/11	W. 45 J. ♀	5.	Larynx	„	40·0	Pneumonie Empyem	15. 38·2	10 „	steril	vereinzelt Str. pyo.	zahllos Str. pyo.

Diathese. Von den übrigen Komplikationen seien erwähnt echte Diphtherie der Augen, der Haut und des Darmes (bei dieser wurden in den reichlichen blutigen Stühlen zahllose Kolonien des Löfflerbacillus nachgewiesen), ferner Bronchopneumonien und 4 Fälle schwerster allgemeiner postdiphtherischer Paresen; die letzteren zeigten einen sterilen Liquor. Nur 6 Fälle verliefen ohne Komplikationen, und von diesen war zweimal die Cerebrospinalflüssigkeit infiziert.

Tabelle III.
Das Verhalten des bazillenfreien Liquor cerebrospinalis zu den bakteriologischen Blutuntersuchungen.

	Liquor war steril	Das Herzblut war klinisch* untersucht		Das Herzblut war anatomisch* untersucht		Liquor und Herzblut anatomisch und klinisch untersucht steril
		infiziert	steril	infiziert	steril	
1— 5 Jahre . . .	13	9	4	12	1	8
5- 15 „ . . .	9	5	4	7	2	4
15—25 „ . . .	2	2	—	2	—	3
25—50 „ . . .	2	2	—	2	—	—
Summa:	26	18	8	23	3	15

* Der Kürze halber wähle ich die Ausdrücke „klinisch" und „anatomisch" und verstehe unter „klinisch" die von mir durch Herzpunktion sofort nach dem Tode, unter „anatomisch", die bei der Autopsie etwa 24 Stunden nach dem Tode im pathologisch-anatomischen Institut vorgenommene Herzblutuntersuchung.

Tabelle III illustriert das Verhalten des bazillenfreien Liquors zu den bakteriologischen Blutuntersuchungen; die erste Rubrik enthält die steril gebliebenen Flüssigkeiten, die folgenden den Ausfall der Blutkultivierung bei der einerseits sofort post mortem und andererseits 24 bis 36 Stunden später gemachten Entnahme aus dem Herzen.

Während der Liquor 26 mal steril war, wurde das Blut kurz nach dem Tode in 18 Fällen infiziert, in 8 steril, im pathologisch-anatomischen Institut in 23 bazillenhaltig, in 3 keimfrei gefunden. Durchweg fand sich aber bei diesen 26 steril gebliebenen Liquorfällen ein positives bakteriologisches Herzblut entweder kurz nach dem Tode oder im pathologischen Institut. Nur in 15 weiteren Fällen war sowohl der Liquor als das Blut bei beiden Untersuchungsmethoden absolut steril.

Wir sehen also, daß es bei ganz schweren Fällen mit Bakteriämie nicht so oft zu einer Infektion der Cerebrospinalflüssigkeit kommt, wie Bonhoff nach seinen Untersuchungsergebnissen annehmen möchte; sind doch unter 57 post mortem gemachten Untersuchungen 41 steril gewesen.



Anderseits sehen wir aus der nun folgenden Tabelle IV, daß der Liquor nur in solchen Fällen bazillenhaltig war, wo gleichzeitig eine Bakteriämie bestand, und, wie wir noch bei der Besprechung der nachgewiesenen Bakterienarten sehen werden, decken sich die im Liquor vorhandenen Bazillen nicht immer mit den im Blut kreisenden.

Unter den 16 Fällen mit bazillenhaltigem Liquor konnte ich kurz nach dem Tode 14 mal (2 wurden von mir nicht untersucht) ein infiziertes Blut nachweisen, in zwei dieser Fälle blieb die spätere Blutuntersuchung steril. Bei einer größeren Untersuchungsreihe über das zeitliche Eindringen von Bakterien in die Blutbahn an Diphtherie Verstorbener habe ich einigemal ein mit Bazillen durchsetztes Blut gefunden, während die anatomische Blutkultivierung steril geblieben war. Zu diesen gehören die soeben angeführten beiden Fälle.[1]

Tabelle IV.
Das Verhalten des bazillenhaltigen Liquor cerebrospinalis zu den bakteriologischen Blutuntersuchungen.

	Liquor war infiziert	Das Herzblut war „klinisch“ untersucht		Das Herzblut war „anatomisch“ untersucht	
		infiziert	steril	infiziert	steril
1— 5 Jahre	11	10*	—	10	1
5—15 „	4	3*	—	3	1
15—25 „	1	1	—	1	—
Summa:	16	14	—	14	2

* Zwei Fälle wurden „klinisch“ nicht untersucht.

Ich fand also unter diesen 57 Fällen der zweiten Untersuchungsreihe das Blut 15 mal steril, unter den restierenden 42 war eine Infektion des Liquor spinalis 16 mal nachgewiesen.

An den in den beiden Tabellen durch Fettdruck hervorgehobenen Fällen sind intra vitam und sofort nach dem Tode Punktionen ausgeführt worden, und es zeigt sich, daß während am Lebenden die erhaltene Flüssigkeit durchweg steril blieb, nur in einem Fall nach dem Tode sich in derselben wie auch im Blut Streptokokken nachweisen ließen. Während das Blut bei meinen Untersuchungen nur einmal steril blieb und 5 mal Streptokokken enthielt, wurde im pathologisch-anatomischen Institut 2 mal ein steriles, 2 mal ein nur mit Streptokokken infiziertes Blut gefunden; in den

[1] William Leede, Bakteriologische Blutbefunde bei Diphtherie. *Diese Zeitschrift.* 1911. Bd. LXIX.



beiden weiteren Fällen waren neben Streptokokken einmal Staphylokokken und einmal Coli gezüchtet worden.

Da ich sofort nach der Entnahme die Flüssigkeit zur Anreicherung in den Brutschrank brachte, so konnte ich über die bei der Entnahme vorhanden gewesene Keimzahl keine Anhaltspunkte gewinnen.

Was nun die verschiedenem Keime anbetrifft, so fand Bonhoff in den Fällen, in welchen Diphtheriebazillen in der Cerebrospinalflüssigkeit wuchsen, bei der etwa 24 bis 36 Stunden nach dem Tode vorgenommenen Untersuchung des Blutes kein einziges Mal Diphtheriebazillen. Ferner decken sich seine im Liquor gefundenen Keime nicht mit den im Blut nachgewiesenen, und gebe ich die Gegenüberstellung aus seinen angeführten Fällen der Reihe nach wieder.

Tabelle V.
Bakteriologischer Ausfall (pathologisch-anatomisch) des

Fall	Herzblutes	Liquor cerebrospinalis
1 und 9	Dipl. lanc.	Di.-B. + Dipl. lanc.
2	Str. pyo.	Di.-B.
3 und 7	steril	Di.-B.
4	Bact. coli	Di.-B. + Bact. coli
5	Str. pyo.	Di.-B. + Str. pyo.
6	Str. pyo. + Dipl. lanc.	Di.-B. + Str. pyo.
8	Str. pyo. + Staph. aur.	Di.-B. + Kokken

Aus der nun folgenden Zusammenstellung der Ergebnisse meiner Untersuchungen zeigt sich im Gegensatz zu den von Bonhoff angeführten, daß nur solche Bazillen sich im Liquor fanden, die auch aus dem Leichenblut unmittelbar nach dem Tode oder später gezüchtet wurden.

Tabelle VI.
Bakteriologischer Ausfall (klinisch untersucht) des

Zahl	Liquor cerebrospinalis sofort nach dem Tode	Herzblutes sofort nach dem Tode	Herzblutes 24-36 Std. nach dem Tode
5	Str. pyo.	Str. pyo.	Str. pyo.
2	Str. pyo.	Str. pyo.	steril
1	Str. pyo + Bact. coli	Str. pyo. + Bact. coli	Bact. coli
1	Str. pyo.	nicht gemacht	Str. pyo.
1	Str. pyo.	Str. pyo.	Str. pyo. + Dipl. lanc.
1	Str. pyo.	Str. pyo.	Str. pyo. + Staph. aur.
1	Pneumokokken	nicht gemacht	Staph. aur.
1	Str. pyo.	Str. pyo. + Di.-B.	Str. pyo.
1	Str. pyo. + Di.-B.	Str. pyo. + Di.-B.	Di.-B.
2	Str. pyo. + Di.-B.	Str. pyo. + Di.-B.	Str. pyo. + Di.-B.



Nur dreimal konnte ich Diphtheriebazillen im Liquor nachweisen bei gleichzeitiger Bakteriämie durch dieselben allein oder mit Streptokokken zusammen.

Aus meinen Untersuchungen ergibt sich:

1. Daß nach den Ergebnissen der ante mortem gemachten Untersuchungen der Übertritt von Mikroben in die Cerebrospinalflüssigkeit nicht lange vor dem Tode erfolgte.

2. Daß das Eindringen der Mikroorganismen in den Lumbalkanal am häufigsten in den ersten 2 Krankheitswochen erfolgte.

3. Daß die Diptheriebazillen nur selten in dem Liquior spinalis sich nachweisen lassen; unter 90 Fällen nur 3mal.

4. Daß nur in solchen Fällen sich die Löfflerbazillen im Liquor fanden, bei denen gleichzeitig eine durch dieselben oder mit anderen zusammen verursachte Bakteriämie bestand.

5. Daß der Liquor bei schweren Diphtheriefällen unter beträchtlichem Druck steht.

6. Daß in keinem Fall von schwersten, früh oder spät aufgetretenen postdiphtherischen Lähmungen sich Löfflerbazillen im Liquor fanden.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg.]
(Direktor: Prof. Dr. Kruse.)

Über Auflösungserscheinungen von Bakterien.

I. Mitteilung.

Von

Privatdozent Dr. **Bürgers**, Dr. **Schermann** und Dr. **F. Schreiber**.

Im folgenden soll ausführlich über Untersuchungen berichtet werden, welche seit geraumer Zeit in dem Laboratorium Prof. Kruses zuerst in Bonn, dann in Königsberg angestellt worden sind.[1] In dieser ersten Abhandlung beschränken wir uns auf die Auflösungserscheinungen, die sich bemerkbar machen, wenn Bakterien (oder Pilze) der Selbstverdauung, der Einwirkung von Trypsin, Magensaft, Alkalien und Säuren unterworfen werden.

Bei unseren Versuchen wurde durchweg folgende Technik benutzt. Je eine 24stündige Agarkultur wurde mit je 5 ^{ccm} physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, von der Aufschwemmung kamen je 1 ^{ccm} in sterile Reagensgläser, dazu 1 ^{ccm} physiologischer Kochsalzlösung (bzw. in den späteren Versuchen 1 ^{ccm} Trypsin- oder Pepsinlösung, Kalilauge oder Salzsäure) und gegebenenfalls 2 bis 4 Tropfen Chloroform. Außer lebenden Bakterien wurden fast immer auch Aufschwemmungen benutzt, welche $^3/_4{}^h$ auf 60°, 70°, 80° und 15′ auf 90° und 100° im Wasserbade erhitzt waren. Die Röhrchen, welche also im ganzen 2 ^{ccm} enthielten, wurden 24^h bis 48^h bei 37° gehalten, die entsprechenden Kontrollen im Frigo. Dann wurde der makroskopische und mikroskopische Befund notiert.

[1] Hr. Prof. Kruse hat darüber schon in einer vorläufigen Mitteilung (*Münch. med. Wochenschrift*, 1910, Nr. 13) kurz berichtet und die wichtigsten Ergebnisse, soweit sie damals feststanden, auch in dem ersten Kapitel seiner *Allg. Mikrobiologie* (1910 bei Vogel) verarbeitet. Ältere Literatur findet sich an letzter Stelle angegeben.



Tabelle I.

Selbstverdauung mit Chloroformzusatz.

Art der Bakterien	Unerhitzte Bakterien		60° Bakterien		70° Bakterien		80° Bakterien		90° Bakterien		100° Bakterien	
	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h
Dysenterie	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	[(+)]	(+)
Typhus	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	(+)	(+)
Paratyphus B	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pseudodysenterie	0	(+)	0	0	0	0	0	0	0	0	(+)	(+)
Coli	(+)	+	0	0	0	0	0	0	0	0	(+)	(+)
Cholera	(++)	(++)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enteritis	(+)	(+)	0	0	0	0	0	0	0	(+)	(+)	(+)
Fluorescens non liquefaciens	(++)	(++)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bac. pneumoniae Friedländer	[(+)]	(+)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Meningokokken	(++)	(++)	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
Prodigiosus	++	++	0	0	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+
Proteus	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pyocyaneus	++	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pneumococcus	++	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Staphylococcus albus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Streptococcus häm.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Megatherium	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Milzbrand	++	++	(+)	(+)	(+)	(+)	[(+)]	[(+)]	0	0	0	0
Influenza	++	++	0	0	0	0	0	0	(+)	(+)	(+)	(+)
Hefe	0	0	0	0							0	0
Penicillium glaucum	0	0	0	0							0	0
Aktinomykose	(+)	+	(+)	+							(+)	+

Tabelle II.

Selbstverdauung.

Bakterienart	Lebende Bakterien + Chloroformzusatz nach 48h	Lebende Bakterien ohne Chloroformzusatz nach 48h
Mäusetyphus	[+]	[(+)]
B. Capsulatus	(++)	[(+)]
Kapselbazillen aus Stuhl	(++)	0
Ozaena	++	(+)
Vibrio Metschnikoff	+	0
Vibrio Elbensis	++	+
Vibrio aus Fäces	++	+
Hühnercholera	[+]	[+]
Subtilis	+	+
Mycoides	[(+)]	[(+)]
Micrococcus roseus	[(+)]	0
Hühnertuberkulose	0	0
Aktinomyces	+	0

Erklärung der Tabellen:

+++ = vollständige Auflösung.
(+++) = weniger vollständige Auflösung.
++ = starke Auflösung.
(++) = schwache „
+ = sehr schwache Auflösung.
(+) = Spuren von „
[ ] = nur mikroskopisch wahrnehmbare Veränderung.
0 = keine Veränderung.

I. Selbstverdauung.

Zu Tabellle I und II ist folgendes zu bemerken: Hält man lebende Bakterien mit Chloroformzusatz bei 37°, so treten bei allen Bakterien, mit Ausnahme der grampositiven Staphylokokken, Streptokokken, Megatherium sowie der Schimmelpilze und der Hefe, mehr oder weniger starke Veränderungen ein, die wir als Selbstverdauung auffassen. Bei den meisten Bakterien ließ sich diese Veränderung schon makroskopisch als Aufhellung der Aufschwemmung erkennen. Irgend welche Gesetzmäßigkeit bezüglich der Stärke der Selbstverdauung, namentlich durchgreifende Unterschiede bei den grampositiven und gramnegativen, konnten nicht beobachtet werden. Dagegen fiel es auf, daß die Verdauung bei den Bakterien,



welche schon auf künstlichen Nährböden sehr empfindlich sind, wie Pneumo- und Meningokokken, Influenza usw., besonders stark auftrat. Mikroskopisch ließen sich bei allen Bakterien, mit Ausnahme der oben bereits genannten Arten, starke Veränderungen nachweisen, und zwar schlechte Färbbarkeit, gequollene oder verkleinerte, körnig bzw. faserig zerfallene Formen und schließlich völlige Auflösung.

Der Befund der Frigokontrollen wurde sofort nach dem Auftauen in lauwarmem Wasser abgelesen, desgleichen die mikroskopischen Präparate sofort angefertigt. Bei diesen Kontrollen wurden fast niemals Veränderungen beobachtet, weswegen sie in den Tabellen nicht angeführt sind.

Durch weitere Kontrollen konnten wir uns noch überzeugen, daß das Einfrieren und Auftauen die Bakterien nicht merkbar schädigt. Durch Hitze abgetötete Bakterien erliegen der Auflösung gewöhnlich nicht, doch machen Meningokokken bei 60° und Milzbrandbazillen selbst noch zwischen 60° und 80° eine Ausnahme von der Regel, indem sie auch da beträchtliche Zeichen der Auflösung zeigen. Bei Prodigiosus fehlten solche nach Erhitzung auf 60°, traten aber bei höheren Temperaturen und besonders bei 100° wieder ein. Anscheinend widerstehen die Bakterien nicht vollständig der Erhitzung selbst.

Ohne Chloroform tritt eine Auflösung aber wohl nur bei denjenigen Bakterien ein, welche in Kochsalzlösung Schaden erleiden, so namentlich bei Pneumokokken, Influenza, Meningokokken und Milzbrandbazillen.

Wir gehen wohl nicht fehl in der Annahme, daß die oben beschriebenen Erscheinungen durch Selbstverdauungs-autolytische Fermente verursacht werden, welche schon in den lebenden Bakterien enthalten sind, aber erst zur Wirkung gelangen, wenn die Bakterien in ihrer Lebenstätigkeit gehemmt werden.

Um festzustellen, ob der mikroskopische Befund bei der Autolyse ohne Chloroform parallel geht einer Abtötung der Keime, wurden Versuche mit Dysenterie, Typhus und Paratyphus angestellt, deren Ergebnis in Tabelle III zusammengefaßt ist. Es wurden sowohl dichte Bakterienaufschwemmungen, etwa 200 mg auf 1 ccm Kochsalzlösung, und dünne, etwa 200 mg auf 10 ccm Kochsalzlösung, der Autolyse unterworfen und daraus mit entsprechenden Verdünnungen nach 24 h Zählplatten angelegt. Selbstverständlich wurden von den Röhrchen mit Chloroformzusatz keine Zählungen vorgenommen, da man hier keine lebenden Bakterien erwarten konnte. Wie aus der Tabelle III ersichtlich, bestätigt das Zählverfahren im großen und ganzen den mikroskopischen Befund bei der Färbung. Eine völlige Übereinstimmung läßt sich ja auch kaum erwarten.



Tabelle III. Abtötung der Bakterien bei der Autolyse.

		Ohne Zusatz von Chloroform		**Mit** Zusatz von Chloroform		Zusatz 1 Tropfens einer 20 prozent. Peptonlösung **mit** Chloroformzusatz		Zusatz 1 Tropfens einer 20 prozent. Peptonlösung **ohne** Chloroformzusatz		Kontrolle der im (Frigo-Apparat) aufbewahrten Bakterien	
		Konzentrierte Aufschw.	Verdünnung	Konzentrierte Aufschw.	Verdünnung	Konzentrierte Aufschw.	Verdünnung	Konzentrierte Aufschw.	Verdünnung	Konzentr. Aufschw.	Verdünnung
Bacillus dysenteriae	Mikroskop. Befund	Zum großen Teil färbbare Bakterien, daneben mehrere schattenhaft gefärbt.	Bakterien gut gefärbt, vereinzelt angegriffen.	Der größte Teil der Gesichtsfelder zeigt **schlecht färbbare Bakterien**, sehr wenig gut färbbar.	**Bakterien stark angefressen**, vereinzelte noch färbbar.	Wenig **leidlich gefärbte** Bakterien.	Bakterien in **Klumpen umgewandelt**, schlecht färbbar.	Verhältnismäßig gut färbbar.	Etwas schwächer gefärbt, keine Formveränderung.	Bakterien ohne Ausnahme in sämtlichen Präparaten gut gefärbt.	
	Plattenbefund	325 Kol.	410 Kol.					520 Kol.	400 Kol.	1280 Kol.	1400 Kol.
Bacillus typhi	Mikroskop. Befund	Bakterien allgemein noch gut färbbar, viele darunter schwach färbbar.	Bakterien gut gefärbt, darunter viele angegriffene.	Bakterien **sehr schlecht** färbbar.	Vereinzelt noch färbbar.	Sehr **schlecht färbbare** Bakterien, erhebliche Formveränderung	Gleichfalls in der Form verunstaltete, **schlecht färbbare Bakterien.**	Leidlich färbbar.	Schwächer färbbar, viele in Klumpen umgewandelt.	Bakterien gut gefärbt.	
	Plattenbefund	55 Kol.	190 Kol.					180 Kol.	230 Kol.	1495 Kol.	845 Kol.
Bacillus paratyphi	Mikroskop. Befund	Bakterien leidlich gut färbbar	Bakterien gut gefärbt, vereinzelt etwas angegriffen.	Viele schwach färbbare Bakterien, keine Veränderung der Form.	Bakterien gut gefärbt, etwas verunstaltet.	Schwach färbbare Bakterien, sehr wenig gut gefärbt.	Leidlich gut färbbar.	Sehr viel schwach gefärbte Bakterien, erhebliche Formveränderung.	Schwach gefärbt, angefressen.	Bakterien gut gefärbt.	
	Plattenbefund	1800 Kol.	960 Kol.					320 Kol.	720 Kol.	1800 Kol.	3200 Kol.

Tabelle IV.

Trypsinverdauung bei Zusatz von Chloroform.

Bakterienart	Unerhitzte Bakterien		60° Bakterien		70° Bakterien		80° Bakterien		90° Bakterien		100° Bakterien	
	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h
Dysenterie	++	+++	0	0	0	0	(+++)	+++	+++	+++	+++	+++
Pseudodysenterie	++	+++	(+)	(+)	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Typhus	++	++	0	0	(+)	++	++	++	+++	+++	+++	+++
Paratyphus B	(+++)	(+++)	0	0	(+)	++	+	+++	++	+++	++	+++
Coli	(++)	(++)	0	0	0	0	+	+	+	+	++	++
Enteritis	++	++	(++)	++	++	++	++	+++	(+++)	+++	+++	+++
Cholera	+++	+++	(+)	(+)	(++)	(++)	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Bac. pneumoniae Friedländer	+	++	(+)	++	(+)	++	(+)	++	++	+++	++	+++
Proteus	(++)	++	(+++)	+++	(+++)	+++	+++	+++	+++	+++	(+++)	+++
Prodigiosus	++	++	++	(+++)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Meningococcus	+++	+++	(+++)	+++	(+++)	+++	(+++)	+++	(+++)	+++	(+++)	+++
Pyocyaneus	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
B. fluorescens non liquefaciens	(+++)	(+++)	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Pneumococcus	+	+	++	+++	++	+++	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Milzbrand	++	++	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0
Megatherium	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Staphylococcus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Streptococcus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hefe	0	0	0	0			0	0			0	0
Penicillium glaucum	0	0	0	0			0	0			0	0
Aktinomykose	(+)	++	(++)	++			(++)	++			++	++

Tabelle V.
Trypsinverdauung mit und ohne Chloroform.

Bakterienart	Unerhitzte Bakterien + Chloroform	Unerhitzte Bakterien ohne Chlorof.	60° Bakterien + Chloroform	100° Bakter. + Chloroform
Micrococcus roseus . . .	(++)	0	(+)	(+)
Mäusetyphus	+++	0	++	++
Capsulatus	(+)	(+)	+	+++
Ozaena	+++	0	(++)	+++
Vibrio Elbensis	+++	+	+	++
Vibrio Metschnikoff . . .	(+++)	+	++	+++
Geflügelcholera	(+++)	0	(++)	+++
Mykoides	0	0	0	0
Subtilis	0	0	0	0
Hühnertuberkulose . . .	0	0	0	0
Aktinomyces	+	0	(++)	++

II. Trypsinverdauung.

Zu Tabelle IV ist zunächst zu bemerken, daß in der Tabelle die Trypsinverdauung von lebenden Bakterien ohne Chloroformzusatz ganz weggelassen ist aus dem einfachen Grunde, weil hier mikroskopisch fast niemals eine Spur von Verdauung zu bemerken war, was eine Bestätigung dessen, was schon Kantorowicz[1] u. a. gefunden hatten, bedeutet, nämlich daß lebende Bakterien nicht von Trypsin angegriffen werden.[2] Eine Ausnahme bilden lediglich Cholera, Pneumokokken, Milzbrand und einige Vibrionen, was wohl in der starken Autolyse dieser Bakterien eine ungezwungene Erklärung findet.

Ebenso ist in der Tabelle nicht aufgenommen der Befund der Frigokontrollen, da nur solche Versuche als maßgebend angesehen wurden, wo in den Frigokontrollen keine Veränderung zu konstatieren war.

Betrachten wir nun Stab 1 der Tabellen IV und V, so fällt sofort auf, daß die grampositiven Bakterien der Trypsinverdauung regelmäßig nicht unterliegen, während sämtliche gramnegativen Bakterien mehr oder weniger aufgelöst werden. Ausnahmen von der Regel kommen vor, so bei Pneumokokken und Milzbrandbazillen sowie bei Aktinomykose, erklären sich aber wohl wieder

[1] *Münchener med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 18.

[2] Mikroskopisch ließ sich jedoch bei den gramnegativen Bakterien fast immer ein gewisser Zerfall und schlechte Färbbarkeit nachweisen.



daraus, daß sie durch die Tätigkeit ihrer Selbstverdauungsfermente aufgelöst werden. Auch bei den gramnegativen Formen spielen letztere wahrscheinlich eine gewisse Rolle, so daß wir in den Ergebnissen des Stabes 1 nicht eine reine Trypsinwirkung sehen dürfen.

Da die Selbstverdauung durch Erhitzung auf 100° sicher ausgeschlossen wird, käme dann auch die reine Trypsinwirkung zur Geltung. Der letzte Stab unserer Tabelle bestätigt in der Tat die oben ausgesprochene Regel, daß der Trypsinverdauung nur die gramnegativen Bakterien erliegen.

Aus den Tabellen ist aber noch eine weitere interessante Tatsache zu entnehmen, daß nämlich die Trypsinverdauung der auf 60° erhitzten gramnegativen Bakterien öfters schwächer ist, als die der durch Chloroform oder bei 100° abgetöteten, ja daß sie manchmal sogar ausbleibt. Schon Kantorowicz, der offenbar nur die Verdauungen erhitzter Bakterien gründlich studiert hat, fiel der Unterschied zwischen der Einwirkung höherer und niederer Temperaturen auf, und er versuchte ihn durch die Annahme von hitzeempfindlichen Antifermenten zu erklären.

Uns kann das nicht einleuchten; denn es ist doch recht wenig wahrscheinlich, daß Chloroform solche Antifermente stärker schädigt, als Erhitzung auf 60°. Wir möchten daher eher mit Prof. Kruse annehmen, daß die Erhitzung auf 60° das Protoplasma der Bakterien (durch Gerinnung?) in einen schwer löslichen Zustand versetzt, während stärkere Erhitzung denselben wieder beseitigt.

Was den mikroskopischen Befund bei den in obigen Tabellen angeführten Versuchen anbelangt, so deckt er sich durchgehends mit dem makroskopischen. Als erstes Zeichen der Verdauung macht sich eine schlechte Färbbarkeit der Bakterien, namentlich bei Methylenblaufärbung, bemerkbar. Bei fortschreitender Verdauung verändert sich die Form der Mikroorganismen, indem sie entweder schrumpfen (Typhus, Cholera) oder stark quellen (Micrococcus roseus). Bei Kapselbazillen kommt es zu einem Schwund der Kapsel. In den Röhrchen mit makroskopisch sehr starker Aufhellung endlich findet man nur größeren oder feineren körnigen Detritus. Wir haben uns übrigens davon überzeugt, daß die Wirkung des Trypsins nicht erst in so starken Lösungen (1 Prozent) eintritt, wie sie von uns größtenteils benutzt wurden, sondern schon in 10 bis 100 mal verdünnten.

III. Pepsinverdauung.

Zur Technik der nun folgenden Pepsinverdauungsversuche ist folgendes zu bemerken: Zu 1 ccm der wie sonst hergestellten Bakterienaufschwem-



Tabelle VI.
Verdauung in 1 prozentiger Pepsinsalzsäurelösung.

Bakterienart	Unerhitzte Bakterien		60° Bakterien		70° Bakterien		80° Bakterien		90° Bakterien		100° Bakterien	
	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h	nach 24h	nach 48h
Dysenterie	0	0	0	0	0	0	0	0	(++)	(++)	++	++
Typhus	0	0	0	0	0	0	+	+	++	++	++	++
Paratyphus	0	0	0	0	0	0	0	0	(+)	(+)	(+)	(+)
Coli	0	0	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+
Enteritidis	0	0	0	0	0	(+)	0	(++)	(+)	++	(+)	++
Bac. pneumoniae Friedländer	0	0	0	0	0	(+)	(+)	+	(+)	+	(+)	+
Proteus	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++
Prodigiosus	+	+	+	(+++)	++	(+++)	++	(+++)	++	(+++)	++	(+++)
Meningococcus	n. v.	n. v.	+	(++)	+	(++)	+	(++)	+	(++)	+	(++)
Milzbrand	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Megatherium	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Staphylococcus aureus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hefe	0	0	0	0			0	0			0	0
Penicillium glaucum	0	0	0	0			0	0			0	0
Aktinomykose	0	0	0	0			0	0			0	0

mungen wurde 1 ccm einer 2proz. Pepsinlösung (in 2 prozent. Salzsäure gelöst) hinzugefügt und die Röhrchen 24 h bis 48 h bei 37° gehalten. Die Frigokontrollen enthielten nur gleiche Mengen Bakterienaufschwemmung und Kochsalzlösung.

Tabelle VII.

Verdauung in 1 prozentiger Pepsinsalzsäurelösung.

Bakterienart	Unerhitzte Bakterien nach 48 h	60° Bakterien nach 48 h	100° Bakterien nach 48 h
Cholera	(+++)	+++	+++
Vibrio Metschnikoff	(+++)	++	+++
Vibrio Elbensis	++	(++)	+++
Pseudodysenterie	(+++)	+++	+++
Kapselbazillen aus Fäces	0	+	+
Pyocyaneus	0	++	++
Fluorescens non liquefaciens	++	+++	+++
Mäusetyphus	+	++	+++
Schweineseuche	(+)	++	+++
Suipestifer	0	++	+++
Suisepticus	0	++	++
Rattenseuche	+	+	++
Pneumokokken	(+)	(+)	(+)
Megatherium	0	0	0
Subtilis	0	++	(++)
Mycoides	0	0	0
Milzbrand	0	0	0
Staphylococcus albus	0	0	0
Säurefeste Papageibazillen	0	0	0

Aus den Tabellen VI und VII kann man ersehen, daß lebende Bakterien gar nicht oder nur sehr mäßig von der Pepsinsalzsäurelösung angegriffen werden, und zwar sind es mit Ausnahme des Pneumococcus nur die empfindlichsten der gramnegativen Gruppe. Ein Blick auf den letzten Stab von Tabelle VI und Stab 2 und 3 von Tabelle VII läßt aber wieder einen deutlichen Unterschied zwischen den grampositiven und -negativen erkennen. Die ersteren werden auch im erhitzten Zustande gar nicht, die letzteren dagegen stark angegriffen, und zwar die auf 100° erhitzten stets stärker wie die auf 60° erhitzten.

Wieder deckt sich der makroskopische mit dem mikroskopischen Befund, der je nach dem Grade der Aufhellung in blasser, schlecht färbbarer Form, dann in Schatten und schließlich in kümmerlichen, unbestimmbaren Resten besteht.



Tabelle VIII. Auflösung durch Salzsäure.

	Je 1 ccm unerhitzte Bakt. + 1 ccm 50 prozent. Salzsäure	Je 1 ccm 60° Bakterien + 1 ccm 50 prozent. Salzsäure	Je 1 ccm 100° Bakterien + 1 ccm 50 prozent. Salzsäure	Je 1 ccm unerhitzte Bakt. + 1 ccm 20 prozent. Salzsäure	Je 1 ccm 60° Bakterien + 1 ccm 20 prozent. Salzsäure	Je 1 ccm 100° Bakterien + 1 ccm 20 prozent. Salzsäure	Je 1 ccm unerhitzte Bakterien + 1 ccm 2 prozent. Salzsäure
Milzbrand	0	0	0	0	0	0	0
Diphtherie							
Megatherium	0	0	0	0	0	0	0
Staphylococcus albus	++	++	++	+	+	+	0
„ aureus	(++)	(++)	(++)	+	+	+	0
Streptococcus	0	0	0	0	0	0	0
Orange Sarcine	++	++	++	(+)	(+)	(+)	0
Vibrio Elbensis	0	0	0	0	0	0	0
Vibrio Metschnikoff	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0
Cholera	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0
Coli	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0
Typhus	+	+	+	0	0	0	0
Dysenterie (Kruse)	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0
Pseudodysenterie	(+)	(+)	(+)	0	0	(+)	0
Kapselbazillen aus Fäces	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	0
Pyocyaneus	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0
Proteus	0	0	0	0	0	0	0
Fluorescens liq.	(+)	0	0	(+)	(+)	(+)	0
Mäusetyphus	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0
Schweineseuche	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0
Rattenseuche	0	0	+	0	0	0	0
Suipestifer	0	0	0	0	0	0	0
Suisepticus	0	0	0	0	0	0	0
Geflügelcholera	+	+	+	0	0	0	0
Kapselbazillen	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0
Ozaena	(+)	0	(+)	0	0	0	0
Prodigiosus	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0
Friedländer	+	+	+	0	0	0	0
Hefe	+	+	+	(+)	(+)	(+)	0
Penicillium glaucum	(++)	(++)	(++)	+	+	(+)	(+)
Aktinomykose	(+++)	(+++)	(+++)	++	++	++	(+)

IV. Salzsäureverdauung.

Über die Auflösungserscheinungen durch Salzsäure gibt vorstehende Tabelle VIII Aufschluß:

Durch 1 proz. Salzsäure läßt sich also bei allen Bakterien mikroskopisch keine Auflösung nachweisen, wohl eine schwache bei Penicillium glaucum und Aktinomykose. Mikroskopisch — die Säure wurde durch Fixierung der Präparate in aufsteigendem Alkohol ausgewaschen — findet sich blasse Färbung bei Milzbrand, Coli, Pseudodysenterie, Pyocyaneus, Mäusetyphus und Suisepticus, bei Cholera außerdem Quellungsformen.

In 10 proz. Salzsäure sieht man makroskopisch deutliche Aufhellung bei Staphylococcus albus und aureus, geringe bei Sarcine, Kapselbazillen aus Fäces und Fluorescens, ferner deutliche Aufhellung bei Penicillium glaucum und Aktinomykose. Die mikroskopische Untersuchung zeigte bei Milzbrand Bilder von Zerfall, am stärksten bei gekochten. Bei den schleimbildenden Bakterien konnte man öfters die Beobachtung machen, daß sie nach der Salzsäurebehandlung die Farbe nicht mehr annehmen, so daß sie wie im Tuschepräparat ungefärbt inmitten einer roten Schleimhülle liegen.

Selbst in 25 proz. Salzsäure war die Auflösung der Bakterien nur gering, am stärksten noch bei den Staphylokokken und Sarcinen, deutlich bei Typhus, Geflügelcholera und Friedländer-Bazillen, schwach bei Vibrio Metschnikoff, Cholera, Coli, Dysenterie, Pseudodysenterie, Kapselbazillen, Pyocyaneus, Mäusetyphus, Schweineseuche, Ozanea und Prodigiosus, besonders stark wieder bei Schimmel und Aktinomykose.

Bei der Färbung nehmen alle Bakterien die Farbe nur schlecht an. Intakt bezüglich der Form sind Pseudodysenterie, Proteus, Suipestifer, Coli, Metschnikoff, Geflügelcholera und Kapselbazillen. Zerfall findet man bei Milzbrand und Pyocyaneus, Quellung bei Cholera, Verkleinerung der Form bei Mäusetyphus und Staphylokokken, vollkommenen Schatten bei Rattenseuche und Kapselbazillen aus Fäces.

Selbstverständlich wurden auch hier die Versuche nur dann als beweisend angesehen, wenn die Frigokontrollen intakt waren.

Säurefeste Bazillen — Tuberkelbazillen, Hühnertuberkulose, Grasbazillen, Möller- und Papageibazillen — werden makroskopisch in 25 proz. Salzsäure nicht verändert. Nur die Papageibazillen zeigten mikroskopisch eine etwas blassere Färbung (nach Ziehl).

V. Kalilaugeverdauung.

Die Auflösung durch Kalilauge ist in folgender Tabelle zusammengestellt.



Tabelle IX.
Auflösung durch Kalilauge.

Bakterienart	Je 1 ccm unerhitzte Bakterien + 1 ccm 20 prozentige Kalilauge	Je 1 ccm unerhitzte Bakterien + 1 ccm 2 prozentige Kalilauge	Je 1 ccm 60° Bakterien + 1 ccm 2 prozentige Kalilauge	Je 1 ccm 100° Bakterien + 1 ccm 2 prozentige Kalilauge
Milzbrand	++	0	0	+
Diphtherie	(++)	0		
Megatherium	++	(+)	(+)	(+)
Staphylococcus albus	+++	(+)	(+)	(+)
„ aureus	++	(+)	(+)	(+)
Streptokokken	+++	0	0	0
Orange Sarcine	+++	0	0	0
Oidium lactis	+++	0		
Vibrio Elbensis	(+++)	(+++)	+	0
Vibrio Metschnikoff	(+++)	++	+	0
Cholera	(+++)	+++	++	+
Coli	+++	++	(++)	(+)
Kapselbazillen aus Fäces	+++	+++	++	+
Typhus	+++	(++)	(++)	+
Dysenterie	+++	++	++	+
Pseudodysenterie	+++	++	++	+
Pyocyaneus	+++	(+++)	++	0
Proteus	+++	+	(+)	0
Fluorescens liq.	(+++)	+	+	+
Mäusetyphus	+++	++	(++)	+
Schweineseuche	+++	+	0	0
Rattenseuche	(+++)	++	++	+
Suipestifer	+++	(++)	(++)	+
Suisepticus	(+++)	+	+	(+)
Geflügelcholera	+++	++	(+)	(+)
Kapselbazillen	+++	+++	++	+
Ozaena	+++	(+++)	++	(++)
Prodigiosus	+++	++	++	+
Bac. Friedländer	+++	++	++	+
Hefe	++	+	+	+
Penicillium glaucum	(++)	+	+	+
Aktinomykose	0	0	0	0

In 10 proz. Kalilauge lösen sich, wie die Tabelle zeigt, alle Bakterien mehr oder weniger restlos auf, die Aufschwemmungen der schleimbildenden Bakterien nehmen dabei oft eine glasige Beschaffenheit an. Mikroskopisch findet man ab und zu blasse Exemplare von Bakterien, auch vereinzelt stark gequollene Formen (Milzbrand), meist aber nur geringen Detritus. Auffallenderweise läßt sich Aktinomykose selbst in 10 proz. Kalilauge nicht auflösen.

Die Auflösung der Bakterien in 1 proz. Kalilauge läßt wieder einen markanten Unterschied zwischen dem Verhalten der grampositiven und -negativen erkennen. Die grampositiven Bakterien werden nämlich von der 1 proz. Kalilauge gar nicht oder nur in sehr geringem Maße angegriffen, während die gramnegativen unerhitzten Bakterien sämtlich stark gelöst werden. Damit tritt die Wirkung der Kalilauge in Parallele zu der Trypsinverdauung, wo wir die gleichen Unterschiede feststellen konnten.

Die mikroskopischen Bilder bestätigen vollständig den makroskopischen Befund. Je nach dem Grade der Auflösung, wie er aus der Tabelle ersichtlich ist, sieht man bei den gramnegativen Bakterien verwaschene Konturen, gröberen oder feineren Detritus und faseriges Gerinnsel.

Einen eigentümlichen Unterschied zeigen die auf 60° bis 100° erhitzten gramnegativen Bakterien. Oft ist nämlich die Auflösung der auf 60° erhitzten Bakterien schwächer als die der unerhitzten, und immer ist am schwächsten die Auflösung der auf 100° erhitzten Mikroorganismen, so daß man mit steigenden Temperaturen eine förmliche Stufenleiter des Auflösungsgrades erhält. Sollte diese bei allen Versuchen auftretende Erscheinung nicht auf die Wirkung von Fermenten als Hauptfaktor auch bei der Verdauung durch Kalilauge hindeuten?

Der mikroskopische Befund läßt dieselben Unterschiede zwischen dem Verhalten der unerhitzten und auf 60° und 100° erhitzten Bakterien erkennen, was am besten durch nachfolgende Tabelle X illustriert wird.

Auf der letzten Tabelle endlich sind die Befunde bei den Auflösungsversuchen einiger säurefester Bazillen durch Kalilauge zusammengestellt. (Vgl. Tabelle XI.)

Kalilauge veränderte die Papageibazillen makroskopisch nicht. Mikroskopisch jedoch beobachteten wir bei 25- und 10 proz. Kalilauge Zerfall, bei 1 proz. Kalilauge Usurierung der Bazillen. Tuberkelbazillen und Grasbazillenaufschwemmungen hellten sich in 25 proz. und 10 proz. Kalilauge deutlich auf, das Präparat zeigte nur noch wenige Bazillen. In 1 proz. Kalilauge konnte nur bei den Grasbazillen mikroskopisch körniger Zerfall nachgewiesen werden. Die grobflockige Aufschwemmung der Hühnertuberkulose wurde schon in 1 proz. Kalilauge homogen und zeigte auch eine geringe Aufhellung. Das Präparat wies blasse Bazillen und



Tabelle X.

Mikroskopisches Verhalten der unerhitzten und erhitzten Bakterien bei der Auflösung in 1 prozentiger Kalilauge.

Bakterienart	Unerhitzte Bakterien	Auf 60° erhitzte Bakterien	Auf 100° erhitzte Bakterien
Kapselbazillen	alles blaß, viel Gerinnsel	mäßig gefärbt, Gerinnsel vorhanden	mäßig gefärbte Bazillen, Detritus fehlt fast vollständig.
Metschnikoff	Detritus, Schatten und blasse Vibrionen	gut gefärbte Vibrionen	intakte, etwas blasse Vibrionen.
Elbensis	unkenntlicher Detritus	blasse Vibrionen	gut gefärbte Vibrionen.
Cholera	Detritus	gut gefärbte Vibrionen	fast intakt.
Pyocyaneus	blasser körniger Zerfall	zum großen Teil intakt	intakt.
Proteus	wenig Zerfall	blaß, intakt	intakt.
Rattenseuche	alles blaß und zerfallen	wenig Zerfall	gut gefärbte Bazillen.
Typhus	grober Detritus		intakt.
Dysenterie	blaß, verwaschen, Konturen nicht erkennbar		Konturen scharf, Färbung mäßig.

Tabelle XI.

Bakterienart	1 ccm Bakterienaufschwemmung + 1 ccm 50 prozentige Kalilauge	1 ccm Bakterienaufschwemmung + 1 ccm 20 prozentige Kalilauge	1 ccm Bakterienaufschwemmung + 1 ccm 2 prozentige Kalilauge	**Frigo-Kontrolle:** 1 ccm Bakterienaufschwemmung + 1 ccm physiologische Kochsalzlösung
Tuberkelbazillen	+	+	0	0
Hühnertuberkulose	++	++	(+)	0
Grasbazillen Möller	+	+	0	0
Säurefeste Papageibazillen	0	0	0	0
Aktinomyces				

Gerinnsel auf. In 10 proz. Kalilauge lösten sich diese Bazillen stark, in 25 proz. Kalilauge sogar fast vollständig auf.

Schließlich haben wir Auflösungsversuche mit Antiformin angestellt, über deren Resultate folgende Tabelle XII Aufschluß gibt.

Tabelle XII. Auflösung in Antiformin.

Bakterienart	In 2 Prozent Antiformin				In 10 Prozent Antiformin				In 50 Proz. Antiformin
	5′	30′	3h	24h	5′	30′	3h	24h	5′
Milzbrand	0	0	(+)	(+)	(+)	(+)	+	++	+++
Megatherium . . .	0	0	0	0	+	+	(++)	++	+++
Staphylococcus albus	0	0	(+)	(+)	+	+	(++)	+++	+++
„ aureus	0	0	0	0	+	+	(++)	+++	+++
Streptococcus . . .	0	0	0	0	++	++	+++		+++
Orange Sarcine . .	(+)	++	++	++	+++	+++	+++		+++
Weiße Sarcine . . .	+	++	++	++	++	+++	+++		+++
Oidium lactis . . .	+	++	++	+++	++	+++	+++		+++
Hefe	0	0	0	(+)	0	+	+	++	++
Mesentericus . . .	0	0	0	0	0	0	(+)	(+)	+++
Pyocyaneus	++	++	++	++	++	+++	+++		+++
Prodigiosus	(+)	++	++	++	++	+++	+++		+++
Proteus	(+)	+	+	++	+	++	+++		+++
Fluorescens	(+)	+	+	++	+	(++)	+++		+++
Ozaena	+	+	(++)	++	++	+++	+++		+++
Kapselbazillen . . .	++	++	++	+++	+++	+++	+++		+++
Rhinosklerom . . .	++	++	++	+++	+++	+++	+++		+++
Friedländer	(+)	+	+	+	+	+++	+++		+++
Coli	(+)	(+)	+	+	+	+	(++)	+++	+++
Typhus	+	+	+	+	++	+++	+++		+++
Paratyphus	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	++	+++
Dysenterie	(+)	(+)	+	+	(++)	(++)	++	+++	+++
Pseudodysenterie . .	(+)	(+)	+	+	(++)	(++)	++	+++	+++
Cholera	++	++	++	++	+++	+++	+++		+++
Vibrio 2	++	+++	+++		+++	+++	+++		+++
Mäusetyphus . . .	(+)	(+)	(+)	+	(+)	(+)	(+)	++	+++
Meerschweinseuche .	(+)	(+)	+	+	+	+	(++)	+++	+++
Geflügelcholera . .	+	+	(++)	++	+++	+++	+++		+++
Penicillium glaucum .	0	0	0	+	(+)	(+)	+	++	+++
Aktinomykose . . .	0	0	0	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+++

Wie man sieht, entspricht die Auflösung in Antiformin im wesentlichen derjenigen in Kalilauge. Auflösungsversuche mit Eau de Javelle sind noch im Gange und sollen in der nächsten Abhandlung mitgeteilt werden.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)

Über die Bedeutung und das Vorkommen der Muchschen Granula.

Von

Privatdozent Dr. med. **D. O. Krylow,**
klinischem Assistenten der Kaiserl. militär-medizinischen Akademie zu St. Petersburg.

Im Jahre 1907 veröffentlichte Much seine interessanten Beobachtungen über eine nach Ziehl nicht färbbare, aber nach der modifizierten Gram-Methode darstellbare virulente Form des Tuberkelbacillus. Morphologisch tritt sie in zwei Formen auf, entweder in der Form eines teilweise granulierten Stäbchens oder in der Form von Granula, die bald vereinzelt, bald in unregelmäßigen Häufchen angeordnet sind. Diese letztere Form nannte Much die granuläre.

Die Muchschen Untersuchungen erregten großes Interesse, da das Fehlen von Tuberkelbazillen bei gewöhnlicher Färbung nach Ziehl schon lange bekannt war in Fällen, die klinisch deutlich das Bild der Tuberkulose boten oder diese Diagnose durch den positiven Ausfall des Tierversuches rechtfertigten. So kennen wir z. B. das Fehlen von Tuberkelbazillen im Eiter der kalten Abszesse, das intermittierende Verschwinden derselben aus dem Sputum der Phthisiker usw. Es ist daher nicht wunderbar, daß nach der Veröffentlichung der Muchschen Beobachtungen eine ganze Reihe von Arbeiten erschien, die sowohl die Nachprüfung der Muchschen Befunde, als auch die diagnostische Bedeutung der Muchschen Granula zum Gegenstande hatten. Zu diesem Zwecke wurden Organe tuberkulöser Tiere und Menschen, Sputum, Urin, Reinkulturen, kurz Ausgangsmaterial der verschiedensten Herkunft untersucht. Die



meisten Autoren (Michaelidès, Treuholz, Wirths, Weiss, Weihrauch, Wehrli und Knoll u. a.) konnten bestätigen, daß die von Much beschriebene Form in der Tat existiert. Darüber jedoch, ob sie ein gewisses Stadium der Entwicklung oder eine Degenerationsform des Tuberkelbacillus darstellt, gingen die Meinungen auseinander. v. Behring hält die Muchsche granuläre Form für ein durch bakteriolytische Einflüsse erzeugtes Zerfallsprodukt, Geipel für eine degenerative Form. Much selbst sieht in den von ihm beschriebenen Granula eine sehr resistente Entwicklungsform. Den Entwicklungsgang des Tuberkelbacillus stellt er sich so vor, daß im käsigen, von der Ernährung mehr oder weniger abgeschnittenen tuberkulösen Gewebe oder im tuberkulösen Eiter die Säurefestigkeit des Tuberkelbacillus beeinträchtigt wird, wobei der Bacillus in nur nach Gram darstellbare Körner zerfällt. Gelangen diese Körner auf irgend welche Weise wiederum in die Zirkulation oder in gesundes Gewebe, so entstehen aus ihnen nur nach Gram färbbare Stäbchen; hier werden diese mit Fettsäuresubstanz imprägniert und dadurch wieder säurefest.

An einer anderen Stelle (s. Vortrag vom 18. I. 1908) spricht sich Much dahin aus, daß der im Vergleich zu dem menschlichen Tuberkelbacillus virulentere Perlsuchtbacillus zum Schutze seiner Pathogenität eine säurefeste Hülle nicht nötig habe. Beim Vergleich dieser Annahme mit der weiter oben angeführten bezüglich des Entwicklungsganges des Tuberkelbacillus kann hier ein gewisser Widerspruch nicht entgehen: man müßte dann auch annehmen, daß beispielsweise der im Eiter des kalten Abszesses oder in der verkästen Drüse, d. h. unter ungünstigen Ernährungsbedingungen befindliche Bacillus in solchem Maße an Virulenz zunimmt, daß er eines Schutzes seiner pathogenen Eigenschaften nicht mehr bedarf und seine säurefeste Hülle als eine nunmehr überflüssige abwirft.

Liebermeister hält die nach Gram färbbaren Granula für einen normalen Bestandteil des Tuberkelbacillus. Und in der Tat zeigen seine Untersuchungen, daß das, was bei den Ziehlschen Präparaten in Form solider Stäbchen, unter denen nur wenige granuliert sind, beobachtet wird, bei den Gramschen Präparaten durchweg aus bald vereinzelt, bald reihenweise liegenden Körnern besteht. Bei kombinierter Färbung mit Fuchsin und Methylviolett sind rote Bazillen mit violetten Körnchen sichtbar (Wehrli und Knoll, Weiss u. a.). Übrigens haben bereits i. J. 1886 Lutz und Unna die modifizierte Gram-Methode zur Färbung von Tuberkel- und Leprabazillen angewandt und dabei gefunden, daß jeder säurefeste Bacillus bei derartiger Behandlung sich in Form reihenweise angeordneter Granula darstellt. Ferner hat — worauf Caan die Aufmerksamkeit gelenkt hat — im Jahre 1889 Herman bei Anwendung

einer Farbmischung von 1 prozentiger Ammonium-Karbonatlösung in destilliertem Wasser und 3 prozentiger Krystallviolettlösung in 95 prozent. Methylalkohol das Vorhandensein von teilweise granulierten Tuberkelbazillen in einem Falle von kongenitaler Tuberkulose beim Kalb nachgewiesen, wo das Resultat der Untersuchung bei gewöhnlicher Färbung negativ war.

Die Ansichten über die diagnostische Bedeutung der Much schen Form gehen gleichfalls auseinander. Aus leicht begreiflichen Gründen wurde der Muchschen Form in erster Linie Wert beigelegt insofern, als sie im Sputum, wo die Ziehlsche Methode versagt, nachgewiesen werden kann. Dabei haben sich die Mehrzahl der Autoren in dem Sinne ausgesprochen, daß die einzelnen Granula eine diagnostische Bedeutung nicht haben können; denn man kann sie leicht mit Farbstoffniederschlägen, Partikelchen des Pigments, Detritus oder Kokken verwechseln (Schottmüller, Wolff, Eisenberg, Dold u. a.). Eine Vorbehandlung des Sputums mit Antiformin (Weihrauch) beseitigt diese Möglichkeit der Verwechslung nicht vollständig. Im Gegensatz zu den genannten Autoren nimmt Schulz an, daß es bei einiger Übung nicht schwierig ist, die granuläre Form des Tuberkelbacillus von Kokken, Farbstoffniederschlägen und dergleichen zu unterscheiden. Liebermeister hält nicht die einzelnen Granula, die sich von den anderen Bestandteilen des Präparates nur schwer unterscheiden lassen, für beweisend, vielmehr nur die kettenartig in Stäbchenform angeordneten Körner. Weiter findet er, daß dort, wo neben Tuberkelbazillen andere grampositive Mikroorganismen vorhanden sein können, d. h. im Sputum oder in alten Zerfallsherden, die Färbung nach Gram zum Beweise der Anwesenheit von Tuberkelbazillen nicht angewandt werden kann.

Aus denselben Gründen ist diese Methode zu dem erwähnten Zwecke bei Untersuchung von Kot und dergleichen nicht geeignet. Nach Schottmüller kann aber die Gram-Methode gute Dienste leisten bei der Untersuchung von Flüssigkeiten der Körperhöhlen (pleuritischen Exsudaten, Spinalflüssigkeit und Harn).

Auch die chemische Natur der nach Gram färbbaren Granula der Tuberkelbazillen ist noch nicht geklärt. Much äußerte sich in vorsichtiger Weise dahin, daß der Tuberkelbacillus offenbar aus zwei verschiedenen Substanzen bestehe, von denen eine nach Ziehl, die andere nach Gram darstellbar sei. Wirths hat auf Grund seiner und der Deyckeschen Untersuchungen — und ihm schloß sich hierin Weiss an — sich dahin geäußert, daß die nach Gram färbbaren Granula aus Eiweißsubstanzen bestehen, während der Bazillenleib der Gruppe der Fette oder Wachse zuzurechnen sei.



Aus dieser kurzen Literaturübersicht geht hervor, daß über die nach Gram färbbaren Granula des Tuberkelbacillus noch nicht das letzte Wort gesprochen ist. Im besonderen muß bezüglich der Muchschen granulären Form bemerkt werden, daß es nicht einmal allen Autoren, die in dieser Richtung gearbeitet haben, gelungen ist, dieselbe zu konstatieren (Dold), was übrigens aller Wahrscheinlichkeit nach von Besonderheiten des untersuchten Materials abhing. Zur weiteren Klärung dieser für die praktische Tuberkulosediagnostik wichtigen Frage nahm ich den mir im Königl. Institut für Infektionskrankheiten gemachten Vorschlag, hierüber Untersuchungen anzustellen, gern an.

Als Material für meine Untersuchungen, die ich auf Anregung und unter Beihilfe des Hrn. Stabsarztes Dr. Möllers ausgeführt habe, dienten mir Reinkulturen der Tuberkelbazillen sowohl vom Typus humanus als auch vom Typus bovinus, die auf Glyzerinbouillon verschieden lange Zeit bis zu 3 Monaten gewachsen waren, ferner getrocknete Bazillen verschiedenen Alters, bis zu 10 jährigen einschließlich, durch Alkohol und Erwärmen abgetötete Tuberkelbazillen, verschiedene säurefeste Bazillen (Agarkulturen), Organe tuberkulöser Tiere (Meerschweinchen und Kaninchen), Sputum Lungenkranker, auf verschiedene Weise entfettete Tuberkelbazillen, ferner aus ihnen extrahierte Fette bzw. Wachsarten.

Was die Methodik anbetrifft, so möchte ich kurz erwähnen, daß ich folgende beiden Färbemethoden anwandte:

Gram-Methode II.

Methylviolett B. N., 10 ccm gesättigte alkoholische Lösung in 100 ccm 2 prozent. Karbolwasser (Aufkochen über der Flamme oder 24 bis 48 Stunden bei 37°).

Jodjodkaliumlösung . . . . . 1—5 Minuten,
5 prozent. Salpetersäure . . . 1 Minute,
3 prozent. Salzsäure . . . . . 10 Sekunden,
Acetonalkohol (āā).

Gram-Methode III.

Methylviolett B. N. (Lösung wie oben), Aufkochen oder längere Zeit bei 37°, Jodkalium-Wasserstoffsuperoxydlösung (5 grm Jodkalium, 100 ccm 2 prozent. H_2O_2) bis 2 Minuten, Alkohol absolut.



Einen Unterschied zwischen beiden Methoden konnte ich nicht wahrnehmen. Für die Kontrastfärbung benutzte ich bei der Ziehlschen Methode Methylenblau, bei der modifizierten Gram-Methode Bismarckbraun; bei Untersuchung von Reinkulturen wurde eine Gegenfärbung nicht immer gemacht. Stets wandte ich neben der Ziehlschen und der modifizierten Gram-Methode eine kombinierte Färbung mit einer Mischung von Karbolfuchsin (3 Teile) und Karbolmethylviolett B. N. (1 Teil) nach Weiss an. Die Karbolmethylviolettlösung wurde stets unmittelbar vor der Färbung hergestellt. Alle Farbstofflösungen wurden vor dem Gebrauch filtriert.

Bei Untersuchung von Tuberkelbazillenkulturen beider Typen, von getrockneten Bazillen verschiedenen Alters, sowie von durch Erwärmen oder durch Alkohol abgetöteten Tuberkelbazillen erhielt ich immer ein und dasselbe Bild. In den Ziehlschen Präparaten zeigt sich das Gesichtsfeld mit soliden roten Stäbchen besät, und nur ausnahmsweise findet man granuläre Bazillen. Dagegen sind in den Gram-Präparaten solide Stäbchen nur ausnahmsweise darstellbar, während die Mehrzahl der Bazillen sich aus reihenweise in Stäbchenform angeordneten Körnchen zusammensetzt. Diese liegen entweder frei oder sie sind miteinander durch die kaum bemerkbare hellviolette oder hellgraue Substanz des Bazillenleibes verbunden. Bei einzeitiger Doppelfärbung mit Fuchsin und Methylviolett erhält man sehr gute Bilder: die violetten Körner liegen innerhalb der hellrosa gefärbten Bazillen. Die Körnerzahl in einem Bacillus schwankt zwischen 1 und 5; nur selten finden sich mehr. Die Richtung der Körnerlagerung zeigt nicht immer die Lage der Bazillen an: ich hatte Gelegenheit bei Doppelfärbung zu sehen, wie 2 oder 3 parallel und dicht beieinander liegende Bazillen nur je ein Granulum aufwiesen, das sich bei jedem Bacillus an dem gleichen Ende befand.

Zur Doppelfärbung nahm ich nach Weiss 3 Teile Karbolfuchsin und 1 Teil Karbolmethylviolett, goß diese Mischung durch ein Filter auf das Präparat und hielt es 3 Minuten über die Flamme, ohne es jedoch zum Kochen zu bringen. Weiter folgte die Jodierung usw., mit einem Wort die Behandlung nach der modifizierten Gram-Methode II oder III. Die Granula erwiesen sich hierbei dunkelviolett, wie bei gewöhnlicher modifizierter Gram-Methode, der Bazillenleib dagegen hellrot, und zwar bedeutend heller als bei der Ziehlschen Färbung. Dieser letztere Umstand bedarf einer Erläuterung.

Man muß annehmen, daß die Granula sowohl zu Methylviolett, als auch zu jodierter Verbindung dieses Pararosanilins eine sehr große Affinität haben, zu Fuchsin dagegen überhaupt keine oder nur eine sehr geringe.



Der Bazillenleib hat gleichfalls eine große Affinität zu Methylviolett, und zwar eine größere als zu Fuchsin, so daß bei Färbung mit einer Mischung von Fuchsin und Methylviolett der letztere Farbstoff vom Bazillenleib in bedeutend größerer Quantität aufgenommen wird als der erstere. Die jodierte Verbindung von Methylviolett wird dagegen vom Bazillenleib überhaupt nicht festgehalten im Gegensatz zu den Granula, die dies in sehr hohem Maße tun. Infolgedessen erscheinen nach der Jodierung die Granula dunkelviolett, der Bazillenleib aber schwach rosa gefärbt.

Dieses Bild läßt sich durch eine Verdünnung des Fuchsins nicht erklären; denn dann müßten die Granula bei Doppelfärbung des Präparates mit Fuchsin und Methylviolett schwächer gefärbt sein als bei einer Färbung mit Methylviolett allein nach der modifizierten Gram-Methode. Im ersteren Falle ist ja das Methylviolett 4 mal verdünnt. Tatsächlich erscheinen aber, wie oben ausgeführt ist, die Granula bei Färbung mit der Weissschen Mischung durchaus nicht schwächer gefärbt als bei Färbung mit Methylviolett allein nach der Gram-Methode II oder III.

Wenn man das Präparat nach der Doppelfärbung auf gewöhnlichem Wege nach Ziehl umfärbt, erhält man dasselbe Bild wie bei dem gewöhnlichen Ziehlschen Präparat: sichtbar sind allein die gut gefärbten roten Bazillen, während die violette Granulierung verschwindet bzw. verdeckt ist.

Hieraus ergibt sich mit Sicherheit, daß sich der Unterschied in der Färbung nicht durch Verdünnung, sondern durch verschiedene Affinität des Bazillenleibes und der Granula zu Fuchsin und Methylviolett einerseits und zu der jodierten Verbindung des letzteren anderseits erklärt; es müssen daher in den nach Gram färbbaren Granula und dem nach Ziehl färbbaren Bazillenleib verschiedene chemische Stoffe enthalten sein.

Bei Färbung nach der modifizierten Gram-Methode erscheinen nicht nur die Tuberkelbazillen granuliert, es kommt vielmehr diese Eigenschaft, worauf schon früher Lutz und Unna hingewiesen haben, offenbar allen säurefesten Bakterien zu. Ich untersuchte Agarkulturen des Timotheebacillus, des Grasbacillus und des Milchbacillus und erhielt ebensolche Bilder, wie bei der Untersuchung der Tuberkelbazillen: bei Färbung nach Ziehl rote Bazillen, bisweilen mit einem endständigen oder in der Mitte liegenden Granulum; bei Färbung mit der Weissschen Mischung hellrote Bazillen mit violetten Granula.

Ein etwas anderes Bild zeigen ganz junge Tuberkulosekulturen (2 bis 7 tägige) oder auch ältere, wenn man zur Untersuchung den auf flüssigem Nährboden am äußersten Rande befindlichen, sich als dünnes Häutchen darstellenden (d. h. den jüngsten) Teil entnimmt. Ich möchte an dieser Stelle noch bemerken, daß die Tuberkelbazillenkulturen vom Typus bovinus sich für diese Zwecke wenig eignen, da sie im Vergleich zum Typus



humanus langsamer wachsen und ein für das unbewaffnete Auge kaum bemerkbares Häutchen an der Peripherie haben.

Die erste Besonderheit der jungen Kulturen besteht darin, daß sie im Vergleich zu den ausgewachsenen weniger säurefest sind und sich überhaupt schlecht färben. Wenn man also das Ziehlsche Präparat mit Methylenblau färbt (Gegenfärbung), so zeigt sich, daß neben den roten in jedem Gesichtsfelde eine Menge blauer, jedoch sehr schwach gefärbter Stäbchen sichtbar ist. Besser färben sich diese Stäbchen mit Bismarckbraun, wie dies auf den Gram-Präparaten, die zur Kontrastfärbung mit diesem letzteren Farbstoff gefärbt sind, zu sehen ist.

Als zweite Besonderheit der jungen Kulturen stellt sich der Polymorphismus des Tuberkelbacillus dar. Der letztere hat bei der Färbung nach Ziehl eine ziemlich mannigfache Form: bald sind Stäbchen von gewöhnlicher Länge, bald Splitter sichtbar; ein anderes Mal findet man Stäbchen mit keulenförmiger Verdickung an einem Ende (ein Granulum enthaltend) und einer Verdünnung an ihrem anderen Ende, wobei der ganze Bacillus gekrümmt erscheint (Kommaform); bald befindet sich die das Granulum enthaltende Verdickung gerade in der Mitte (Spindelform); ebenso kommen auch Stäbchen vor mit zwei Granula, je eines an jedem Ende, wobei das eine gewöhnlich größer ist als das andere. Auch mehr als zwei Granula finden sich in einem Stäbchen. Die Granula erscheinen bei Ziehlscher Färbung meist gesättigt rot, während der übrige Teil des Bacillus nur eine schwache Färbung aufweist.

In den Gramschen Präparaten ist dieser Polymorphismus ebenfalls deutlich sichtbar. Hier ist das Bild im allgemeinen das gleiche, wie in den Ziehlschen Präparaten; nur ist die Granulierung eine reichere. Es sind hier ebenfalls solide (violette) Stäbchen von verschiedener Länge, Splitter, verschieden große, bald reihenweise, bald vereinzelt liegende Granula sichtbar. Hier und da liegen die Granula sehr dicht, perlenschnurartig. Bei Kontrastfärbung mit Bismarckbraun treten viele hellbraune Stäbchen hervor, von denen einige feinste violette Granula enthalten. Weiter zeigt sich, daß einige bis dahin splitterförmige Bazillen jetzt länger erscheinen, da auch jener Teil des Bazillenleibes sichtbar wird, der ohne Kontrastfärbung nicht zu sehen war. Der violett gefärbte Bazillenteil liegt entweder in dessen Mitte oder an einem seiner Enden. Im letzteren Falle besteht der Bacillus gleichsam aus zwei Hälften: einer violetten und einer braunen.

Bei Färbung mit der Weissschen Mischung erhält man ein Bild, das sich von dem bei der modifizierten Gramfärbung wenig unterscheidet, da hier die Färbung mit Fuchsin oft gar nicht hervortritt. Dieses ist auch selbstverständlich, wenn man das Fehlen der Säurefestigkeit bei



jungen Tuberkelbazillen und die größere Affinität der Tuberkelbazillen zu Pararosanilin überhaupt in Betracht zieht.

Wenn man ein mit der Weissschen Mischung gefärbtes Präparat außerdem noch mit Bismarckbraun färbt, so erhält man ein völlig gleiches Bild wie bei der Färbung mit der modifizierten Gram-Methode mit nachträglicher Färbung mit Bismarckbraun. Hier lassen sich gleichfalls hellbraune Bazillen mit violetten Granula von verschiedener Größe konstatieren.

Diese Beobachtungen an jungen Kulturen berechtigen zu folgenden Schlußfolgerungen:

Erstens: Sehr junge Tuberkelbazillen färben sich weder nach Ziehl, noch nach Gram, worauf das Vorhandensein einer beträchtlichen Menge von Bazillen hindeutet, die im Ziehlschen bzw. Gramschen Präparate die Nachfärbung mit Methylenblau und Bismarckbraun annehmen.

Zweitens zeigt sich die grampositive Substanz im Tuberkelbacillus früher als die säurefeste; hierauf kann man aus der Anwesenheit brauner Bazillen mit violetten Granula in den Weissschen Präparaten bei Kontrastfärbung mit Bismarckbraun und aus dem beständigen Fehlen der soliden rot gefärbten, aber keine violetten Granula enthaltenden Bazillen schließen.

Wie weiter oben ausgeführt ist, stellt sich die grampositive Substanz der reifen Tuberkelbazillen fast ausschließlich in Körnerform dar, während sie bei den jungen Bazillen ein verschiedenes Aussehen hat: bald hat sie die Form von kleinen oder großen Granula, bald ist ein mehr oder weniger großer Teil des Bacillus oder der ganze Bacillus grampositiv gefärbt. In dieser Hinsicht besteht zwischen der grampositiven und der säurefesten Substanz ein großer Unterschied: die letztere bedingt, daß bei jungen Bazillen entweder die Granula oder ein größerer oder kleinerer Teil des Bacillus mit Fuchsin intensiv gefärbt erscheinen, während der übrige Teil des Bacillus mit Fuchsin nur sehr schwach gefärbt wird; verhältnismäßig wenige Bacillen nehmen in ihrer ganzen Länge eine gute Fuchsinfärbung an. Reife Bazillen erscheinen dagegen im allgemeinen gut und gleichmäßig gefärbt.

Somit neigt je nach dem Reifestadium des Tuberkelbacillus seine säurefeste Substanz mehr und mehr zur diffusen Verbreitung, während die grampositive sich in Granula konzentriert.

Bezüglich der chemischen Natur der säurefesten und grampositiven Substanz der Tuberkelbazillen ist noch keine Einigung unter den Autoren erzielt. Die Mehrzahl führt die säurefeste Substanz der Tuberkelbazillen auf Fette zurück. R. Koch schreibt die Säurefestigkeit den freien Fett-



säuren zu. Nach Fontes nehmen an dem Zustandekommen der Säurefestigkeit Eiweißkörper teil, nach Helbing chitinähnliche Stoffe; Aronson hält die säurefeste Substanz der Tuberkelbazillen für Wachs; Weiss dagegen hält diese Behauptung für irrig. Deycke führt die Säurefestigkeit auf die Fettsubstanz zurück. Er meint, daß die Muchschen Granula aus Eiweißkörpern und Neutralfett bestehen, während Wirths und Weiss sie nur für Eiweißkörper ansehen. Nach Aronson läßt sich die Substanz der grampositiven Granula vermittelst derselben Flüssigkeit (Trichloräthylen) extrahieren, mit welcher auch die sogenannte säurefeste Substanz vollständig extrahiert werden kann.

Ich machte in dieser Beziehung einige Untersuchungen und benutzte dazu den reichen Vorrat an entfetteten Bazillen und an den aus den Tuberkelbazillen durch verschiedene Flüssigkeiten (Alkohol, Äther, Chloroform und einer salzsauren Alkol-Äthermischung nach Aronson) extrahierten sogenannten Fetten, die im Institut bei Gelegenheit von früheren Untersuchungen über die chemische Struktur der Tuberkelbazillen hergestellt waren.

Der kalte Alkohol entfettet offensichtlich am schlechtesten, besser siedender Alkohol, Äther und Chloroform; noch wirksamer erfolgt die Entfettung durch die salzsaure Alkohol-Äthermischung.

In den Ziehlschen Präparaten, die aus den erhaltenen Fettextrakten angefertigt wurden, sind in der Regel rote amorphe Massen sichtbar. Die Intensität der Färbung ist am schwächsten bei den durch kalten Alkohol extrahierten, am stärksten dagegen bei den durch die Aronsonsche Flüssigkeit erhaltenen Fetten.

In den Gramschen Präparaten sind dieselben Massen sichtbar, nur violett gefärbt. Die Intensität der Färbung geht parallel der bei den Ziehlschen Präparaten.

Bei Untersuchung der durch kalten Alkohol entfetteten Bazillen beobachtet man in den Ziehlschen Präparaten in ziemlich beträchtlicher Menge teilweise rot gefärbte Stäbchen, in den Gramschen Präparaten reihenweise angeordnete violettschwarze Granula.

Bei Untersuchung der durch andere Flüssigkeiten, besonders die Aronsonsche, entfetteten Bazillen sind weder rote Stäbchen noch Granula sichtbar, und die Präparate färben sich im allgemeinen weder nach Ziehl, noch nach Gram, sondern nur mit Methylenblau und Bismarckbraun (Gegenfärbung).

Aus diesen Beobachtungen ergibt sich, daß die grampositiven Granula der Tuberkelbazillen sich in keinem Falle auf Eiweiß zurückführen lassen, da ihre Substanz durch dieselben Flüssigkeiten extrahiert wird, durch welche die Fette, aber nicht das Eiweiß der Bazillen extrahiert werden.

In den (z. B. nach Aronson) entfetteten Bazillen sind die Granula bei Anwendung der gewöhnlichen Gramfärbung schon nicht mehr sichtbar; man findet sie auch nicht in Präparaten aus den Extrakten der Bazillen, während sich diese Präparate nach der modifizierten Gram-Methode färben, wobei sie amorphe violette Massen bzw. eine grampositive Substanz erkennen lassen.

Es verdient Erwähnung, daß die zermahlenen Tuberkelbazillen sich nach meinen Untersuchungen ebenfalls weder nach Gram, noch nach Ziehl färben.

Zum Schluß noch einige Bemerkungen über die Resultate der Untersuchung des übrigen von mir benutzten Materials.

Von den Organen der tuberkulösen Tiere (zum größten Teil Meerschweinchen und zum geringeren Kaninchen) entnahm ich zur Untersuchung die Milz, Leber, Lunge, doch hauptsächlich verkäste Drüsen (vornehmlich Leistendrüsen) und fertigte Ausstrichpräparate an.

Bei den Ziehlschen Präparaten erhielt ich ein verschiedenes Bild: bald waren gut gefärbte rote, teils granulierte Bazillen sichtbar, bald war die Färbung der letzteren sehr schwach, so daß die rote Farbe der Bazillen kaum wahrnehmbar war; in einigen Präparaten waren Tuberkelbazillen überhaupt nicht nachweisbar.

In den Gramschen Präparaten ließen sich entweder schattenhafte hellviolette Bazillen mit dunkelvioletten Granula oder nur letztere, bald vereinzelt, bald reihenweise angeordnet, oder solide violette Stäbchen oder auch keine Bazillen und Granula konstatieren.

In den Weissschen Präparaten erhielt man verhältnismäßig selten hellrosa gefärbte Bazillen mit violetten Granula; gewöhnlich waren violette granuläre oder solide Bazillen sichtbar, während von einer Fuchsinfärbung überhaupt nichts nachweisbar war.

Bei Vergleichung der Ziehlschen Präparate mit den Gramschen ergibt sich folgendes: In einigen Präparaten ist die Zahl der Tuberkelbazillen annähernd die gleiche; häufiger jedoch sind die Gramschen Präparate reicher an Bazillen als die Ziehlschen. Nur in einem Falle wurde das Umgekehrte beobachtet. Bei einem Viertel aller untersuchten Organe (24) ergab die Gramsche Färbung ein positives Resultat, wo die Ziehlsche versagte; in zwei Fällen war es umgekehrt; in zwei Fällen endlich ergab sowohl die Gramsche wie auch die Ziehlsche Methode ein negatives Resultat. Hieraus folgt, daß die modifizierte Gram-Methode ohne Zweifel dort Dienste erweisen kann, wo die Ziehlsche ein positives Resultat vermissen läßt.

Ich möchte hinzufügen, daß ich nur das Vorhandensein reihenweise angeordneter Granula für einen positiven Befund bei der Untersuchung der Gramschen Präparate halte; denn vereinzelt liegende Granula lassen sich von eventuellen Farbstoffniederschlägen usw. nur schwer unterscheiden.

Erwähnt sei hier noch die Untersuchung des Eiters, welcher bei einem subkutan mit Tuberkelbazillen vom Typus humanus geimpften Kaninchen aus dem Impfabszeß entnommen war. Bei der Sektion erwies sich das Tier frei von Tuberkulose, während im Inhalt des erwähnten Abszesses grampositive reihenweise, wie auch vereinzelt angeordnete Granula gefunden wurden; die Ziehlschen Präparate ergaben in diesem Falle ein negatives Resultat.

Bei Untersuchung des Sputums von 16 Lungenkranken erhielt ich in 5 Fällen ein sowohl nach Ziehl als auch nach Gram positives Ergebnis, wobei in diesen wie jenen Präparaten die Zahl der Bazillen annähernd gleich war. In 9 Fällen war das Resultat negativ nach Gram, wie auch nach Ziehl. In einem Falle wies das Ziehlsche Präparat einen größeren Bazillenreichtum auf als das Gramsche; in einem anderen Falle war es umgekehrt.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen lassen sich in folgender Weise zusammenfassen:

1. Junge Tuberkelbazillen färben sich weder nach Ziehl noch nach Gram.

2. Die grampositive Substanz des Tuberkelbacillus tritt während des Wachstums früher auf als die säurefeste.

3. Die grampositive Substanz hat die Neigung, sich in Granula zu konzentrieren, die säurefeste dagegen sich diffus über den Bazillenleib hin zu verbreiten.

4. Bei Färbung nach der modifizierten Gram-Methode zeigt es sich, daß nicht nur die Tuberkelbazillen, sondern auch andere säurefeste Bazillen aus Granula bestehen.

5. Nach ihrer chemischen Struktur gehören die grampositiven Granula der Tuberkelbazillen nicht zur Gruppe der Eiweißkörper.

6. Die von Much modifizierte Gram-Methode kann unter Umständen bei Färbung des Tuberkelbacillus ein positives Resultat dort geben, wo die Ziehlsche Methode versagt.



Literatur-Verzeichnis.

1. H. Aronson, Zur Biologie der Tuberkelbazillen. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1910. Nr. 35. S. 1617.

2. E. v. Behring, Beitrag zur Lehre von den Infektionswegen der Tuberkulose. *Tuberkulosis.* 1907. Vol. VI. p. 423.

3. A. Caan, Vergleichende Untersuchungen über neuere Methoden der Tuberkelpilzfärbung. *Centralblatt für Bakteriologie.* I. Abt. Orig. 1909. Bd. IL.

4. G. Deycke, Zur Biochemie der Tuberkelbazillen. *Münch. med. Wochenschr.* 1910. Nr. 12.

5. G. Deycke u. H. Much, Untersuchungen über endobazilläre Eiweißkörper. *Med. Klinik.* 1908. Nr. 40.

6. H. Dold, Über neuere Methoden der Färbung des Tuberkelbacillus, mit besonderer Berücksichtigung ihrer differential-diagnostischen Bedeutung. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1911. Bd. XXXVI. S. 435.

7. P. Ehrlich, Beiträge zur Theorie der Bazillenfärbung. *Charité-Annalen.* Jahrg. XI. S. 123. — Zitiert nach H. Dold.

8. A. Fontes, Untersuchungen über die chemische Natur der den Tuberkelbazillen eigenen Fett- und Wachsarten und über das Phänomen der Säureresistenz. *Centralblatt für Bakteriologie.* Orig. 1909. Bd. IL. S. 317.

9. S. Fuchs-Wolfring, Die Muchschen „Granula" und die Carl Spenglerschen „Splitter". *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.* 1908. Bd. X. S. 175 bis 182.

10. Geipel, Über die granuläre Form des Tuberkelbacillus. *Münchener med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 22.

11. Hatano, Über kombinierte Färbungsmethoden für Tuberkelbazillen. *Berl. klin. Wochenschrift.* 1909. Nr. 37.



12. **Helbing**, Erklärungsversuch für die spezifische Färbbarkeit der Tuberkelbazillen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900.

13. **R. Koch**, Die Ätiologie der Tuberkulose. *Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. II. S. 12.

14. **E. Leschke**, Über die granuläre Form des Tuberkulosevirus. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1911. Bd. LIX. S. 366.

15. **Liebermeister**, Über die nach Ziehl nicht darstellbare Form des Tuberkelbacillus. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 28.

16. **A. Lutz**, Zur Morphologie usw. *Dermatologische Studien*, herausgegeben von P. Unna. Hamburg 1886. Hft. 1. — Zit. nach H. Dold.

17. **N. A. Michaelidès**, Über eine durch die Ziehlfärbung nicht darstellbare Form des Tuberkelbacillus. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.* 1907. Bd. VIII. S. 79.

18. **H. Much**, Über die granuläre, nach Ziehl nicht färbbare Form des Tuberkulosevirus. *Ebenda.* 1907. Bd. VIII. S. 85.

19. **Derselbe**, Über die nicht säurefesten Formen des Kochschen Tuberkelbacillus. *Ebenda.* 1907. Bd. VIII. S. 357.

20. **Derselbe**, Die nach Ziehl nicht darstellbaren Formen des Tuberkelbacillus. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1908. Nr. 14. S. 691.

21. **Derselbe**, Granula und Splitter. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.* 1908. Bd. XI. S. 67.

22. **S. Rosenblatt**, Vergleichende Untersuchungen über neuere Färbungsmethoden der Tuberkelbazillen nebst einem Beitrag zur Morphologie dieser Mikroorganismen. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. LVIII. S. 173.

23. **Derselbe**, Erwiderung auf die vorstehende (Leschkes) Arbeit. *Ebenda.* 1911. Bd. LIX.

24. **Schottmüller**, Über die klinische Bedeutung der nicht nach Ziehl, sondern nach Gram färbbaren Wuchsform des Tuberkulosevirus. *Münchener med. Wochenschrift.* 1908. Nr. 49. S. 2564.

25. **E. Schulz**, Über die granuläre Form des Tuberkulosevirus im Lungenauswurf. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 36.

26. **C. Spengler**, Über Splittersputa Tuberkulöser. *Diese Zeitschrift.* 1905. Bd. IL. S. 541.

27. **Derselbe**, Neue Färbemethoden für Perlsucht- und Tuberkelbazillen und deren Differentialdiagnose. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1907. Nr. 9. S. 337.

28. **Treuholz**, Form of tubercle bazils, which cannot be coloured by Ziehl. *Medical Record.* 1908. Jan. 11. — Zit. nach Dold.

29. **E. Wehrli** und **W. Knoll**, Über die nach Much färbbare Form des Tuberkulosevirus. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.* 1909. Bd. XIV. S. 135.

30. **Weihrauch**, Beitrag zur Färbung der Tuberkelbazillen und Granula im Sputum. *Zeitschrift für Tuberkulose.* 1909. Bd. XIV.

31. **A. Weiss**, Über den Gehalt käsig-kreidiger Lymphdrüsen an Tuberkelbazillen. *Münchener med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 9. S. 443.

32. **Derselbe**, Zur Morphologie des Tuberkulosevirus unter besonderer Berücksichtigung einer Doppelfärbung. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1909. Nr. 40.



33. M. Wirths, Über die Muchsche granuläre Form des Tuberkulosevirus. *Münchener med. Wochenschrift.* 1908. Nr. 32. S. 1687.

34. Derselbe, Die Muchschen „Granula“ und die Carl Spenglerschen „Splitter“. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.* 1908. Bd. XI. S. 78.

35. P. Wolff, Über latentes Vorkommen der Muchschen Form des Tuberkelbacillus. *Münchener med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 45. S. 2312.

36. F. Ziehl, Zur Lehre von den Tuberkelbazillen, insbesondere über deren Bedeutung für Diagnose und Prognose. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1883. Nr. 5. S. 62.

[Aus dem Laboratorium der akadem. Kinderklinik in Düsseldorf.]
(Prof. Dr. Schloßmann.)

Tuberkulinreaktion und Anaphylaxie.

Von

Dozent Dr. J. Bauer,
Assistenzarzt.

Über das Wesen der anaphylaktischen Erscheinungen besteht noch keine einheitliche Ansicht. Die den Begriff der Anaphylaxie am weitesten fassen, subsumieren alle allergischen Reaktionen (im Sinne v. Pirquets) unter diesen Namen. Diejenigen hingegen, die nur den Tod oder gewisse schwere Krankheitszeichen, die bei Laboratoriumstieren durch wiederholte Injektion von Eiweißstoffen erzielt werden, als anaphylaktische Vergiftung betrachten, geben der Anaphylaxie einen engbegrenzten Raum innerhalb der experimentellen Pathologie.

Zu letzteren gehören diejenigen Forscher, die ganz bestimmte Gesichtspunkte zur Charakterisierung anaphylaktischer Prozesse aufgestellt haben. Sie haben u. a. festgestellt, daß diese Prozesse bei verschiedenen Tierarten different verlaufen können, während die Eiweißkörper mannigfachster Herkunft bei demselben Tiere stets dieselben Erscheinungen auslösen. So sind besonders für das Meerschweinchen ganz bestimmte Kriterien des anaphylaktischen Shoks festgestellt worden. Als äußerstes Zeichen anaphylaktischer Vergiftung wurde der Tod unter Temperatursenkung (Pfeiffer), Komplementverarmung (Friedberger und Hartoch) und Lungenblähung (Auer und Lewis) bei diesem Tiere bezeichnet.

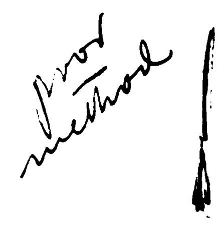
Die erstgenannten Forscher werden selbstverständlich die Reaktionen tuberkulöser Individuen auf Tuberkulin als anaphylaktische Prozesse auffassen, während die letzteren den Nachweis verlangen, daß alle für eine



Tierart charakteristischen Symptome der Eiweißanaphylaxie sich bei den Tuberkulinreaktionen dieses Tieres einstellen müssen, um die Tuberkulinreaktion als eine anaphylaktische anzusehen.

Bei der Eiweißanaphylaxie ist nun von Pfeiffer u. a. festgestellt worden, daß der anaphylaktische Tod des Meerschweinchens unter Temperatursenkung erfolge. Wir wissen nun, daß bei der Einverleibung von Tuberkulin beim tuberkulös infizierten Menschen und Tier Fieberreaktionen auftreten. Ich ging nun von der Überlegung aus, daß das Auftreten der Temperatursenkung nur bei dem Tode des Tieres infolge wiederholter Eiweißeinverleibung beobachtet wurde, während die fieberhafte Reaktion des tuberkulösen Individuums auf Tuberkulin stets bei nicht tödlichen Gaben Tuberkulins aufgezeichnet worden ist. Es könnte hier möglicherweise doch eine Übereinstimmung bestehen in der Art, daß kleine Dosen Eiweiß ebenfalls eine fieberhafte Anaphylaxiereaktion schwächeren Charakters hervorrufen, und daß andererseits größere tödliche Tuberkulindosen ebenfalls einen plötzlichen Temperatursturz veranlassen. Ersterer Teil dieser Überlegung ist mittlerweile von Friedberger und Mita[1] exakt als zurecht bestehend erwiesen worden. Mit Eiweiß infizierte Meerschweinchen pflegen auf die Zweiteinverleibung minimale Mengen desselben Eiweißes mit Fieber zu reagieren. Es bleibt noch zu zeigen, daß sich die Vorgänge bei der Tuberkulininjektion ebenso verhalten, daß das tuberkulös infizierte Meerschweinchen auf geringere Tuberkulindosen mit Temperatursteigerung, auf größere tödliche mit Temperatursturz antwortet. Dieses soll die Aufgabe der zu schildernden Experimente sein.

Des weiteren sollen auch die anderen genannten Kriterien anaphylaktischer Vergiftung beachtet werden.



Eine Reihe von Meerschweinchen wurde subkutan am linken Schenkel mit einer Tuberkelbazillenaufschwemmung geimpft. Diese tuberkulösen Tiere wurden dann mit Alttuberkulin (Koch) in verschieden hohen Dosen intraperitoneal nachbehandelt, und vor und nach der Behandlung auf ihre Körpertemperatur geprüft.

Es war darauf zu achten, daß die Tiere nicht schon an und für sich infolge der Tuberkulose Fieber hatten. Dieses Fieber tritt aber nach Pfuhl[2] erst im Endstadium der Tuberkulose auf, in dem sich eine Abmagerung der Meerschweinchen einstellt. Ich habe die Tiere in einem Stadium der Tuberkulose, in dem sie alle noch zugenommen hatten und

[1] Friedberger und Mita, Über Anaphylaxie. XVIII. Mitteilung. Die anaphylaktische Fieberreaktion. *Zeitschrift für Immunitätsforschung.* Bd. X. S. 216.

[2] Pfuhl, Beitrag zur Behandlung tuberkulöser Meerschweinchen mit Tuberculinum Kochii. *Diese Zeitschrift.* 1892. Bd. XI. S. 241.

fieberfrei waren, mit Tuberkulin nachbehandelt. Daß die Tiere tuberkulös waren, bewies der Sektionsbefund. Auch über alles Weitere geben die folgenden Protokolle Auskunft.

Versuche vom 27. IV. 1910.

Meerschweinchen **519** wurde am 19. II. mit $^1/_{1000}$ Aufschwemmung von 0·014 ^{grm} T.-B.-Kultur M. A. infiziert. Damals Gewicht: 320 ^{grm}. Heute pfenniggroßes verschorftes Ulkus der Injektionsstelle. Gewicht: 430 ^{grm}.

Uhr	Temperatur	
11·45	37·3	
11·55		1·0 Tub. Koch ip.; vorübergehende Lähmung der hinteren Extremität.
12·15	36·0	
1·20	35·5	
3·00	<34·0	
5·00	†	

Obduktionsbefund: R. Kniefaltendrüse stark vergrößert und verkäst. Am rechten Unterbauch hämorrhagisches Ödem. Lunge durchsetzt von hirsekorngroßen, zentralverkästen Tuberkeln. Bronchialdrüsen stark vergrößert, markig, mit käsigen Einsprengungen. Aszites. Milz vergrößert, mit kleinen Tuberkeln dicht durchsetzt. Leber granuliert, vereinzelt makroskopische Tuberkel. Rechte Aortendrüse bohnengroß, zentral verkäst. Linke kleiner, markig. Portaldrüsen erbsengroß, mit vereinzelten Tuberkeln. Zehnpfennigstückgroßes Impfulkus am rechten Oberschenkel.

Meerschweinchen **522** wurde am 19. II. mit $^1/_{10000}$ Aufschwemmung von 0·014 ^{grm} T.-B.-Kultur M. A. infiziert. Damals Gewicht: 280 ^{grm}. Heute kleines Ulkus. Drüsenschwellung der rechten Schenkelbeuge. Gewicht: 435 ^{grm}.

Uhr	Temperatur	
11·45	37·5	
11·55		Tub. Koch 0·1 ip.; keine Erscheinungen.
12·15	36·5	
1·20	38·0	
3·00	38·8	
5·00	37·1	
6·30	36·7	
Nachts †		

Obduktionsbefund: Rechte Kniefaltendrüse vergrößert und verkäst. Hämorrhagische Aszites. Aortendrüse nicht verkäst; desgleichen die portalen und mesenterialen. Lungen: vereinzelte hirsekorngroße Tuberkel. Milz klein und frei. Leber: im Schnitt keine Tuberkeln sichtbar, nnr einige subkapsuläre auf der Höhe der Konvexität. Kleines Impfulkus.

Meerschweinchen **527**. Am 19. II. wurde dieses Tier mit $^1/_{10000}$ von 0·014 ^{grm} T.-B.-Kultur M. A. am rechten Oberschenkel infiziert. Damals Gewicht: 320 ^{grm}. Heute Drüsenschwellungen in der rechten Schenkelbeuge. Pfenniggroßes Ulkus. Gewicht: 455 ^{grm}.



Uhr	Temperatur	
11·45	38·5	
11·55		Tub. Koch 0·001 ip.
12·15	37·9	
1·20	38·5	
3·00	39·7	
5·00	38·9	
6·30	39·1	

Erholte sich. † am nächsten Tage.

Obduktionsbefund: Rechte Kniefaltendrüse vergrößert, mit zentraler Verkäsung. Aortendrüsen geschwollen. Portalen und mesenterialen ebenso. In Lungen und Leber vereinzelte Tuberkel. Pfenniggroßes Impfulkus.

Die Tiere 519, 522 und 527 wurden also mit einer virulenten Tuberkelbazillenkultur an demselben Tage infiziert. Die beiden letzteren mit einer kleineren Menge. Die Nachbehandlung geschah ebenfalls zu gleicher Zeit. Meerschweinchen 519 erhielt 1·0 ccm Tuberkulin und starb nach 5 Stunden unter andauerndem Temperaturabfall.

Bei den Tieren 522 und 527 zeigte sich die Infektion mit der geringeren Dosis auch beim Sektionsbefund in einer wenig geringeren Ausbreitung der Tuberkulose. Diese etwas schwächer infizierten Tiere wurden auch schwächer nachbehandelt. Ersteres mit 0·1 ccm, letzteres mit 0·001 ccm Tuberkulin. Beide zeigten eine Temperatursteigerung, dieses sogar eine stärkere als jenes. Beide starben erst nach längerer Zeit.

Es ist hervorzuheben, daß die nach der Injektion sofort eintretende geringe Temperatursenkung vielleicht zum Teil mit dem Vorgang der Injektion des Tieres zusammenhängt. Jedenfalls sehen wir bei den schwächer infizierten und schwächer nachbehandelten Tieren Temperatursteigerung auftreten. Daß die Temperatursteigerung nach diesen kleinen Dosen 0·001 bis 0·1 ccm Tuberkulin nicht bei gesunden Tieren auftritt, bewiesen Kontrollversuche.

Versuche vom 28. IV. 1910.

Meerschweinchen **523** erhielt am 19. II. in den rechten Oberschenkel subkutan $^1/_{100000}$ von 0·014 grm T.-B.-Kultur M. A. Damals Gewicht: 280 grm. Nur Drüsen in Schenkelbeuge. Heute Gewicht: 360 grm.

Uhr	Temperatur	
12·50	37·0	
1·10		1·0 Tub. Koch ip. Springkrämpfe.
1·30	36·6	
2·30	<34·0	
4·00	<34·0	
5·00	†	



Obduktionsbefund: Rechte Kniefaltendrüse klein, aber verkäst. Linke ebenfalls vergrößert, mit käsigen Einsprengungen. Aszites. Aortendrüsen nicht vergrößert. Portaldrüsen mit käsigen Einsprengungen. Mesenterialdrüsen vergrößert. Lungen ziemlich dicht durchsetzt mit kleinen bis hirsekorngroßen Tuberkeln. Bronchialdrüsen groß, derb, mit beginnender Verkäsung. Milz und Leber groß, dicht mit Tuberkeln durchsetzt.

Meerschweinchen **526** erhielt am 19. II. in den rechten Oberschenkel subkutan $^1/_{100\,000}$ von 0·014 ^{grm} T.-B.-Kultur. Damals Gewicht: 290 ^{grm}. Linsengroßes Ulkus. Heute Gewicht: 460 ^{grm}.

Uhr	Temperatur	
12·50	37·7	
1·10		0·5 Tub. Koch ip.
1·30	36·9	
2·30	37·8	
4·00	39·9	
5·00	38·9	
6·30	35·1	

Nachts †.

Obduktionsbefund: Großes Impfulkus am rechten Oberschenkel. Darunter infiltriertes und verkästes Gewebe. Kniefaltendrüsen vergrößert, enthalten Tuberkel. Aszites. Rechte Aortendrüse vergrößert, verkäst. Portale Drüsen vergrößert ohne sichtbare Verkäsung. Mesenteriale frei. Lungen: vereinzelte kleine, glasige Tuberkel. Milz um das Doppelte vergrößert, zahlreiche frische Tuberkel. Leber bedeckt mit frischen peritonit. Membranen, ohne sichtbare Tuberkel.

Meerschweinchen **520** erhielt am 29. II. subkutan in den rechten Oberschenkel $^1/_{1\,000\,000}$ von 0·014 ^{grm} T.-B.-Kultur M. A. Damals Gewicht: 300 ^{grm}. Verschorftes Ulkus. Dicke Drüsenpakete. Heute Gewicht: 500 ^{grm}.

Uhr	Temperatur	
12·50	38·1	
1·10		0·25 Tub. Koch ip.
1·30	37·7	
2·30	36·7	
4·00	37·4	
5·00	35·1	
6·30	$<$ 34·0	

Nachts †.

Obduktionsprotokoll: Rechte Kniefaltendrüse sehr stark vergrößert und weitgehend verkäst. Aortendrüsen desgl. Ebenso die Portalen. Mesenterialen frei. Aszites. Netz eingerollt und total von Tuberkeln durchsetzt. Lungen enthalten vereinzelte Tuberkel. Bronchialdrüsen vergrößert, mit eingesprengten Verkäsungen. Milz stark vergrößert, mit Tuberkeln durchsetzt. Leber gesprenkelt, enthält nur vereinzelte distinkte Tuberkel.

Meerschweinchen **529**. Am 19. II. subkutan in den rechten Oberschenkel $^1/_{1\,000\,000}$ von 0·014 ^{grm} T.-B.-Kultur infiziert. Damals Gewicht: 260 ^{grm}. Große Drüsenpakete. Heute Gewicht: 415 ^{grm}.

Uhr	Temperatur	
12·50	37·7	
1·10		0·1 Tub. Koch ip.
1·30	37·9	
2·30	39·9	
4·00	39·8	
5·00	38·5	
6·30	36·3	

Nachts †.

Obduktionsprotokoll: Rechte Kniefaltendrüse ist stark vergrößert und verkäst. Linke nur vergrößert. Aszites. Rechte Aortendrüse stark vergrößert und verkäst. Linke kleiner. Portaldrüsen stark vergrößert, mit käsigen Einsprengungen. Mesenterialdrüsen frei. Lunge ganz vereinzelte Tuberkel. Milz wenig vergrößert, ziemlich zahlreiche Tuberkel. Leber frei.

Meerschweinchen 523 und 526 wurden mit einer etwas größeren Dosis von Tuberkelbazillen, aber zu gleicher Zeit, wie Tier 520 und 529 subkutan injiziert.

Sie wurden alle an demselben Tage intraperitoneal nachbehandelt.

Meerschweinchen 523 starb etwa 4 Stunden nach einer Injektion von 1·0 ccm Tuberkulin unter sofortigem und andauerndem Temperatursturz. Die anderen Tiere erhielten geringere Tuberkulingaben (0·5, 0·25 bzw. 0·1); sie zeigten alle Temperatursteigerungen und starben erst nach mehreren Stunden ebenfalls unter Temperatursturz.

Es handelt sich hier teilweise um Tuberkulindosen, die öfters auch (über 0·2 ccm) bei normalen Tieren vorübergehendes Fieber hervorrufen. Es interessiert aber auch in diesen Fällen der weitere Verlauf der Fieberkurve.

Versuche vom 29. IV. 1910.

Meerschweinchen 518 erhielt am 19. II. subkutan in den rechten Oberschenkel $^1/_{1000}$ von 0·014 grm T.-B.-Kultur infiziert. Damals Gewicht: 320 grm. Talergroßes Ulkus. Bein geschwollen. Hautdefekte am rechten Oberschenkel. Heute Gewicht: 430 grm.

Uhr	Temperatur	
1·10	36·0	Blut aus der Jugularis z. Komplementbestimmung (a), Kollaps.
1·20	35·2	
1·25		0·01 Tub. Koch ip.
3·00	35·2	
3·10		Blut aus der Jugularis z. Komplementbestimmung (b).
5·00	36·9	
6·30	37·3	
9·30	37·5	Nachts †.

Sektionsprotokoll: Sehr großes Impfulkus am rechten Oberschenkel. Rechte Kniefaltendrüse stark vergrößert und verkäst. Linke markig ge-

schwollen. Rechte Aortendrüse stark vergrößert mit käsigen Einsprengungen. Linke klein. Rechte Portaldrüsen vergrößert, mit käsigen Einlagerungen. Mesenterialdrüsen frei. Aszites. Lunge dicht durchsetzt mit verkästen Tuberkeln. Milz stark vergrößert, enthält zahlreiche Tuberkel. Leber granuliert, mit zahlreichen Tuberkeln.

Komplementbestimmung.

1 ccm einer 5 prozentigen Aufschwemmung von Hammelbluterythrozyten wird gelöst durch 0·0025 Hammelblutambozeptoren, die vom Kaninchen spezifisch gewonnen sind, und dem Komplementserum vom Meerschw. 518.

Mengen des Meerschweinchenserums in ccm	a	b
0·1	komplett	komplett
0·05	"	"
0·025	"	"
0·015	"	"
0·01	mäßig	mäßig
0	0	0

Meerschweinchen **525** erhielt am 19. II. subkutan in den rechten Oberschenkel $^1/_{1000000}$ von 0·014 grm T.-B.-Kultur infiziert. Damals Gewicht: 300 grm. Große Drüsenpakete rechts. Heute Gewicht: 460 grm.

Uhr	Temperatur	
1·10		Blut aus der Jugularis z. Komplementbestimmung (a).
1·20	36·9	
1·25		0·5 Tub. Koch ip.
3·00	39·1	
3·10		Blut aus der Jugularis z. Komplementbestimmung (b).
5·00	39·2	
6·30	38·6	
9·30	37·5	

Am 30. IV. 1910 vorm. 11 Uhr: 35·5°. Erholt sich. Erhielt am 11. V. wieder Tub. Koch ip. (vgl. später), erwies sich als tuberkulös.

Komplementbestimmung.

1 ccm einer 5 prozentigen Aufschwemmung von Hammelbluterythrozyten wird gelöst durch 0·0025 ccm eines spezifischen Hammelblutambozeptors vom Kaninchen und dem Komplementserum vom Meerschweinchen 525.

Mengen des Meerschweinchenserums in ccm	a	b
0·1	komplett	komplett
0·05	stark	"
0·025	mäßig	mäßig
0·015	wenig	wenig
0·01	Spur	Spur
0	0	0



Tier 518 wird mit einer 1000fachen Dosis Tuberkelbazillen infiziert als 525. Dafür wird dieses aber mit einer 50mal so großen Tuberkulinmenge nachbehandelt. Ersteres stirbt etwa nach Verlauf eines halben Tages, nachdem ein Temperaturanstieg erfolgt ist. Letzteres bekommt Fieber, erholt sich aber.

Es erweist dieser Versuch evident, daß die Endreaktion nicht allein von der Menge des injizierten Tuberkulins, sondern auch von dem Grade der Infektion abhängig ist. Das Tier mit der größeren Tuberkulindosis kam mit dem Leben davon, reagierte aber auf Tuberkulin mit Fieber.

Bei den Tieren 518 und 525 wurde vor und nach der Tuberkulininjektion eine Komplementbestimmung gemacht. Es wurde festgestellt, daß im anaphylaktischen Shok ein Komplementschwund stattfindet. Wir sehen, daß wenigstens während der fieberhaften Reaktion auf Tuberkulin ein tuberkulöses Meerschweinchen selbst eine Verringerung seines Komplementgehaltes nicht zeigen muß.

Versuche vom 30. IV. 1910.

Meerschweinchen **528**, vorbehandelt am 19. II. mit $^1/_{1000000}$ von $0 \cdot 014^{\text{grm}}$ T.-B.-Kultur. Damals Gewicht: 210^{grm}. Symptome: Drüsenpakete rechts. Heute Gewicht: 380^{grm}.

Uhr	Temperatur	
11·15		Blutentnahme zur Komplementbestimmung (a)
11·25	36·9	
11·30		Tub. Koch ip. 1·0.
12·10	35·6	
1·25	34·2	
2·00		Getötet zwecks Blutgewinnung (b).

Sektionsprotokoll: Rechts Kniefaltendrüse stark vergrößert und verkäst. Links nur vergrößert. Aortendrüsen verhalten sich beide ganz entsprechend. Die Portalen sind beide vergrößert. Die rechte zeigt käsige Einsprengungen. Mesenterialen frei. Lungen, Leber und Milz zeigen zerstreute Tuberkel.

Komplementbestimmung.

1^{ccm} einer 5 prozentigen Aufschwemmung von Hammelbluterythrozyten wird gelöst durch $0 \cdot 0025^{\text{ccm}}$ eines spezifischen, Hammelblutambozeptoren enthaltenden Kaninchenserums und Komplementserum vom Meerschweinchen 528.

Mengen des Meerschweinchenserums in ccm	a	b
0·1	komplett	komplett
0·05	„	„
0·025	„	„
0·015	stark	mäßig
0·01	wenig	wenig
0	0	0



Meerschweinchen 524, am 19. II. intrakardial T.-B.-Kultur-Aufschwemmung M.-A. Damals Gewicht: 330 grm. Heute Gewicht: 420 grm.

Uhr	Temperatur	
11·30		Blutentnahme (a).
11·40	37·4	
11.45		Tub. Koch 1·0 ip. Springkrämpfe.
12.10	36·1	
1·25	34·6	

Getötet um 2 Uhr zwecks Blutgewinnung (b).

Komplementbestimmmung.

Hämolyse von 1·0 ccm einer 5 prozentigen Hammelblutaufschwemmung durch ein vom Kaninchen gewonnenes spezifisches Immunserum (2 Ambozeptoreinheiten) und Serum vom Meerschweinchen 524.

Mengen des Meerschweinchenserums, 1:10 verdünnt, in ccm	a	b
1·0	komplett	komplett
0·5	„	„
0·25	„	stark
0·15	stark	mäßig
0·1	mäßig	wenig
0	0	0

Sektionsprotokoll: Ausgedehnte miliare Tuberkulose der Lungen, Leber und Milz. Leber und Milz vergrößert. Die Bronchialdrüsen, mesenterialen und portalen Drüsen sind vergrößert, die ersteren beiden zeigen käsige Herde.

Meerschweinchen 528 wurde mit einer relativ geringen Tuberkelbazillenmenge subkutan gespritzt und erhielt als Nachbehandlung 1·0 ccm Tuberkulin. Es trat sofort Temperatursenkung auf, in deren Verlauf das Tier spontan gestorben wäre (entsprechend Nr. 523 und 526 vorher), wenn es nicht zur Blutgewinnung zwecks Komplementbestimmung im Temperatursturz getötet worden wäre. Die Komplementbestimmung ergab, daß auch im Temperatursturz eine Abnahme des Komplements nicht zu verzeichnen ist.

Meerschweinchen 524 wurde intrakardial mit einer größeren Menge von Tuberkelbazillen infiziert, mit 1·0 ccm Tuberkulin ebenfalls nachbehandelt. Auch hier trat sofortiger Temperatursturz auf, in dem das Tier getötet wurde. Die Komplementbestimmung ergab dabei ebenfalls, daß von einer wesentlichen Komplementverarmung im Temperatursturz nicht die Rede ist.



Versuch vom 3. V. 1910.

Meerschweinchen **536** wurde am 19. II. subkutan am Bauch infiziert mit tuberkulöser Meerschweinchenmilz. Damals Gewicht: 210 grm. Heute Gewicht: 380 grm. Ulkus am rechten Unterbauch.

Uhr	Temperatur	
11·15		Blutentnahme (a).
11·20	36·3	
11·25		Tub. Koch 1·0 ip.
11·55	36·2	
12·30	35·7	
1·30	35·3	
2·45	$<$34·0	
3·35	$<$34·0	
3·50		Blutentnahme (b) am moribunden Tier

Sektionsprotokoll: Ausgedehnte Tuberkulose der Lungen. Dichte Aussaat der Leber. Milz vergrößert und mit Tuberkeln durchsetzt. Bronchial- und Mesenterialdrüsen geschwollen. Desgl. die Aortendrüsen. Rechts Kniefaltendrüse verkäst, links markig geschwollen.

Komplementbestimmung.

Hämolyse von 1·0 ccm Hammelblutaufschwemmung (5 prozent.) durch ein vom Kaninchen gewonnenes Immunserum (2 Ambozeptoreinheiten) und Serum vom Meerschweinchen 536.

Mengen des Meerschweinchenserums, 1:10 verdünnt, in ccm	a	b
1·0	komplett	komplett
0·5	„	„
0·25	stark	stark
0·15	mäßig	mäßig
0·1	„	„
0	0	0

Auch hier, bei dem mit einem tuberkulösen Organ subkutan geimpften Tier zeigt sich auf eine größere Tuberkulingabe sofortige Temperatursenkung. Tod nach etwa $4^1/_2$ Stunden. Selbst das dem sterbenden Tier entnommene Blut zeigte keine Komplementabnahme.

Versuch vom 6. V. 1910.

Meerschweinchen **534**. Injektion mit Lunge von Marta M. (Tuberkulose) subkutan am 7. III. 1910. Damals Gewicht: 210 grm. Heute Gewicht: 400 grm. Lymphdrüsenschwellung.

Uhr	Temperatur	
1·00	39·7	
1·05		Blutentnahme aus der Jugularis (a).
1·15	37·9	
1·17		Tub. Koch 0·6 ip.



Uhr	Temperatur	
2·00	37·5	
3·05	35·1	
4·00	<34·0	
5·00		Moribund Getötet. Blutentnahme (b).

Obduktionsbefund: Die Lungen sind mit Tuberkeln durchsetzt. Desgl. Leber und Milz. Milz angeschwollen. Die Drüsen sind sämtlich angeschwollen. Die Mesenterial- und Bronchialdrüsen teilweise verkäst.

Komplementbestimmung.

Hämolyse von 1·0 ccm einer 5 prozent. Aufschwemmung von Hammelbluterythrozyten durch ein vom Kaninchen gewonnenes Immunserum (2 Amboceptoreinheiten) und Komplementserum des Meerschweinchens 534.

Mengen des Meerschweinchenserums in ccm	a	b
0·1	komplett	komplett
0·05	„	„
0·025	stark	stark
0·015	mäßig	mäßig
0·01	Spur	Spur
0	0	0

Meerschweinchen 534 verhält sich im Versuch genau wie Nr. 536 (siehe vorher).

Versuch vom 11. V. 1910.

Meerschweinchen **525**. Gewicht: 420 grm. Vorbehandlung siehe vorher. Ulkus.

Uhr	Temperatur	
1·00	38·3	
1·12		Tub. Koch 0·5 iv.
1.15	36·3	
1·20	35·8	
2·45	38·3	
4·30	39·6	
5·30	39.4	
6·30	38·9	
7·20	38·1	Nachts †.

Sektionsprotokoll: Ulkus an der Impfstelle. Rechts Kniefaltendrüse sehr vergrößert und verkäst. Rechte Aortendrüse ebenfalls geschwollen und verkäst. Linke vergrößert. Portale Drüsen verkäst. Aszites. Lunge besetzt mit Tuberkeln. Bronchialdrüsen vergrößert, teilweise käsig. Milz vergrößert, durchsetzt mit Tuberkeln. Leber enthält zahlreiche Tuberkel.

Meerschweinchen 525, das schon einmal nach der tuberkulösen Infektion mit Tuberkulin gespritzt war, aber nicht eingegangen war, erhält nun dieselbe Dosis Tuberkulin noch einmal. Diesmal intravenös. Es zeigt wieder eine Fieberreaktion, stirbt aber dieses Mal nach mehreren Stunden.

Aus allen unsrigen Versuchen geht hervor, daß das einmal mit Tuberkelbazillen infizierte Meerschweinchen auf Tuberkulin mit einer Temperaturschwankung antwortet, sei es mit Fieber, sei es mit Untertemperatur. Der Ausfall dieser Reaktion ist von zwei Faktoren abhängig. Erstens von der Stärke der Infektion und zweitens von der Höhe der injizierten Tuberkulinmenge. Die Stärke der Infektion scheint mit der Ausbreitung des tuberkulösen Prozesses identisch zu sein. Diese ist abhängig von der Menge und Virulenz der infizierenden Bazillen und naturgemäß auch von der Zeit, die nach der Infektion verflossen ist.

Bei den stärksten Reaktionen zeigt sich ein sofortiges Sinken der Temperatur bis zu dem nach einigen Stunden erfolgenden Tode. Den nach Minuten erfolgenden Tod unter Temperatursturz, wie bei der Eiweißanaphylaxie, habe ich nicht beobachtet. Es ist möglich, daß diese Art anaphylaktischen Todes bei noch stärker infizierten Tieren bzw. noch größeren Tuberkulinmengen ebenfalls vorkommt. In solchem Falle ist wohl auch die anaphylaktische Lungenblähung zu sehen, die bei unseren Tieren auch nicht auftrat.

Kürzlich wurde nach Abschluß meiner Versuche eine Arbeit von Jacoby und Meyer[1] veröffentlicht, in der diese Forscher zu ähnlichen Resultaten kommen. Sie hatten sich die praktische Aufgabe gestellt, den üblichen Nachweis von Tuberkelbazillen im Meerschweinchenversuch in der Weise abzukürzen, daß sie die infizierten Tiere 14 Tage nach der Injektion des suspekten Materials mit 0·5 ccm Tuberkulin subkutan gespritzt und dann nach der Tuberkulinreaktion mit einem Thermometer rektal gemessen haben. Wenn der Tod des Tieres nicht eintrat, so gab eine Senkung der Temperatur um 3° den Hinweis, daß der Versuch positiv ausgefallen war. Bei diesen Experimenten stellten Jacoby und Meyer fest, daß der Tuberkulintod erst nach Stunden und nicht nach Minuten erfolgte. Auch Lungenblähung haben sie bei ihren Obduktionen selten gesehen.

Auch der Komplementschwund im Blute kam in unseren Fällen nicht vor. Dieser Befund stimmt im übrigen mit den Resultaten von Schenk[2] überein. Dieser Autor fand ebenfalls, daß ein hochgradig tuberkulöses Tier bei der Tuberkulinreaktion kein Komplement verliert.

[1] M. Jacoby und N. Meyer, Die subkutane Tuberkulininjektion als Mittel zur Diagnose des Tuberkelbacillus im Tierversuch. Brauers *Beiträge*. Bd. XX. S. 263.

[2] Ferdinand Schenk, Über das Verhalten des Komplements bei der Tuberkulinreaktion. *Zeitschrift für Immunitätsforschung*. Bd. V. S. 532.



Es wurde nun eine weitere Reihe von Tieren in den Versuch gestellt. Diese Tiere wurden mit einer weniger virulenten Bazillenkultur infiziert. Es war dabei meine Absicht, eine möglichst langsam verlaufende Form der Meerschweinchentuberkulose zu erzeugen und dabei eher auf Tuberkulin Fieberreaktionen hervorzurufen. Tatsächlich gelang es auch Meerschweinchen so mild zu infizieren, daß sie spontan erst nach Monaten starben.

Weiterhin wurde die Versuchsanordnung dahin abgeändert, daß die Tiere nun intravenös nachbehandelt wurden. Ich beabsichtigte damit, die Versuche dem üblichen anaphylaktischen Meerschweinchenversuch ähnlicher zu gestalten, um eventuell auch den vollständigen Komplex der Symptome, wie er beim anaphylaktischen Shok auftritt, zu erzielen.

Am 28. I. 1911 werden 0·017 ccm einer wenig virulenten Tuberkelbazillenkultur Pr. mit 3 Tropfen Glyzerin und 17 ccm physiologischer Kochsalzlösung zerrieben und aufgeschwemmt. Aus dieser Stammaufschwemmung werden dann drei Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung gemacht:

A = 1 : 1000
B = 1 : 10 000
C = 1 : 100 000.

Von 31 Meerschweinchen, im Gewicht zwischen 300 bis 400 grm, erhalten Nr. 1 bis 10 die Verdünnung A, 11 bis 20 die Verdünnung B und 21 bis 30 die Verdünnung C injiziert. Es werden von den betreffenden Verdünnungen jedem Meerschweinchen 1 ccm in den rechten Schenkel subkutan eingespritzt.

Alle Tiere wurden tuberkulös. Doch war die Tuberkulose sehr langsam verlaufend. Die Kontrolltiere lebten nach 5 Monaten noch. Es traten von in vivo diagnostizierbaren tuberkulösen Symptomen teilweise Ulcera, teilweise nur Drüsenaffektionen auf. Darüber finden sich in den Protokollen einzelne Angaben.

Aus dem Versuche scheiden die Tiere Nr. 17, 18 und 28 aus, da sie interkurrent gestorben sind.

Versuche vom 9. III. 1911.

Meerschweinchen Nr. 1. Gewicht: 470 grm. Drüsenschwellung.

Uhr	Temperatur	
11·50	38·1	
11·53		Tub. Koch in 1 ccm 0·001 iv. sofort Schreikrämpfe.
11·55	36·5	
12·10	37·6	
4·40	38·7	
7·50	38·4	



Erholt sich. Wird am 23. VI. 11 noch einmal iv. mit 0·5 Tuberkulin injiziert, worauf es nach einer Fiebersteigerung innerhalb 3 Stunden im Kollaps eingeht (siehe später).

Meerschweinchen Nr. **11.** Gewicht: 400^{grm}. Drüsenschwellung.

Uhr	Temperatur	
12·02	37·5	
12·06		Tub. Koch <u>0·001 iv.</u> sof. Schreikrampf
12·08	36·1	
4·40	38·1	
7·50	38.1	

Erholt sich. Wird ebenfalls am 23. VI. 11 nachbehandelt (siehe weiter).

Meerschweinchen Nr. **21.** Gewicht: 420^{grm}. Drüsenschwellung.

Uhr	Temperatur	
12·15	37·8	
12·18		Tub. Koch <u>0·001 iv.</u> sof. Schreikrampf
12·00	36·9	
4·40	38·5	
7·50	37·4	

Erholt sich. Wird am 23. VI. 11. mit 1·0^{ccm} Tuberkulin iv. nachbehandelt und stirbt, nach einer anfänglichen Fieberreaktion, innerhalb mehrerer Stunden.

Meerschweinchen Nr. **31.** Normaltier. Unvorbehandelt. Gewicht: 410^{grm}.

Uhr	Temperatur	
12·27	38·1	
12·32		Tub. Koch <u>0·001 iv.</u> sof. Schreikrampf
12·35	37·4	
1·25	37·6	

Die Schreikrämpfe sind auf den Karbolzusatz zurückzuführen. Es wurde eine 0·5 prozentige Karbolkochsalzlösung als Verdünnungsflüssigkeit genommen. Daher wird das Tuberkulin zur Injektion von jetzt ab mit gewöhnlicher physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Versuche vom 10. III. 1911.

Meerschweinchen Nr. **2.** Gewicht: 420^{grm}. Ulkus und Drüsenschwellung.

Uhr	Temperatur	
12·35	38·6	
12·38		Tub. Koch <u>0·01 iv.</u>
12·42	37.4	
2·00	39·3	
3.15	40·2	
7·00	39·3	

Starb spontan am 12. VIII. 11.

Sektionsbefund: Leber mit Tuberkeln dicht besetzt. Milz enthält spärlicher Tuberkel. Lungen frei. Aortendrüsen markig geschwollen. Desgl. Mesenterialen. An der Impfstelle markstückgroßes Ulkus. Schwellung der rechten Kniefaltendrüse.



Meerschweinchen Nr. 12. Gewicht: 390 grm. Düsenschwellung.

Uhr	Temperatur	
12·45	38·3	
12·48		Tub. Koch 0·01 iv.
12·51	36·9	
2·00	40·1	
3·15	40·0	
7·00	38·6	Starb spontan am 11. VIII. 11.

Sektionsbefund: Leber und Milz mit Tuberkeln durchsetzt. Lungen frei. Die Aortendrüsen geschwollen, mit käsigen Einsprengungen. Die rechte Kniefaltendrüse geschwollen und verkäst. Aszites sanguin.

Meerschweinchen Nr. 22. Gewicht: 370 grm. Drüsenschwellung.

Uhr	Temperatur	
12·53	38·4	
12·55		Tub. Koch 0·01 iv.
12·57	37·2	
2·00	39·4	
3·15	39·6	
7·00	38·8	Lebt am 14. IX. 11 noch.[1]

Wenn wir die Versuche vom 9. III. und 10. III. vergleichen, so fällt uns auf, daß die ersten 3 Tiere nach der Tuberkulininjektion mit einer kaum in Betracht kommenden Temperatursteigerung reagierten, während die Tiere vom 10. III. alle eine tüchtige fieberhafte Tuberkulinreaktion aufwiesen. Die ersteren Tiere waren nun mit 0·001 ccm Tuberkulin, die anderen mit 0·01 ccm nachbehandelt.

Wir sehen also, daß es beim tuberkulösen Meerschweinchen eine dem Stadium der Tuberkulose entsprechende untere Grenze der Reaktionsfähigkeit gibt.

Diese Resultate stimmen mit denen überein, die Römer und Joseph[2] mit der intrakutanen Reaktion bei tuberkulös infizierten Meerschweinchen gemacht hatten. Auch hier zeigte es sich, daß bei gleichmäßig und gleichzeitig infizierten Tieren in einem gewissen Zeitpunkt der Infektion die untere Grenze der Reaktionsfähigkeit auf die intrakutane Einbringung von Tuberkulinverdünnungen stets gleich ist.

Obgleich nun in unseren Versuchen die Tiere Nr. 1 und 11 eine kleinere Dosis Tuberkelbazillen als Nr. 2 und 12 und diese eine kleinere als Nr. 3 und 13 erhalten hatten, so war offenbar dieser Unterschied nicht ausschlaggebend. Dennoch ergab auch der gleiche langsame Verlauf der Tuberkulose bis zum spontanen Tode der Tiere, daß wir es hier

[1] Anm. b. d. Korr.: Lebt am 6. XI. 11 noch.

[2] Römer und Joseph, Zur Verwertung der intrakutanen Reaktion auf Tuberkulin. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.* 1909. Bd. XIV. S. 1.



zwar mit einer schwachen gleichmäßigen Infektion zu tun hatten, daß aber doch Unterschiede, bedingt durch die Menge des Tuberkelbazillenmaterials, existieren. Die Kontrolltiere starben in der Reihenfolge, die durch die Bazillenmenge bedingt war. Das am stärksten infizierte starb zuerst usw. (vgl. die späteren Protokolle der Tiere Nr. 10, 20 und 30).

Man könnte nun einwenden, daß vielleicht auch gesunde Tiere an dieser Grenze (0·001 bis 0·01) auf Tuberkulininjektionen fieberhaft zu reagieren pflegen. Tatsächliche Untersuchungen hatten mich aber schon früher gelehrt, daß diese Grenze höher liegt. Erst bei über 0·2 ccm beginnen normale Meerschweinchen von dem Gewichte der unsrigen auf Tuberkulin zu fiebern (vgl. auch die Kontrollversuche).

Wenn ich trotzdem in früheren und späteren Versuchen auch mit höheren Dosen Tuberkulin nachbehandelte, so handelt es sich dann nicht mehr darum zu erweisen, daß tuberkulöse Meerschweinchen auf Tuberkulin in kleinen Mengen fieberhaft antworten, sondern vielmehr den weiteren Verlauf der Reaktion bis zum Tode des Tieres zu verfolgen. Daß tuberkulöse Tiere auf kleine Dosen Tuberkulins mit Fieber reagieren, ist durch diese Versuche schon erwiesen.

Bei den am 9. III. tuberkulinisierten Tieren zeigte sich sofort nach der Tuberkulininjektion ein Schreikrampf und Zittern des Tieres. Diese Krankheitszeichen waren schnell vorübergehender Natur. Der Versuch mit Tier Nr. 31 erweist aber, daß diese Krankheitszeichen durch den Karbolzusatz unserer Karbolkochsalzlösung bedingt waren. Es wurde nämlich das Tuberkulin immer in einer Menge von 1 ccm injiziert. In den weiteren Versuchen wurde statt der Karbolkochsalzlösung gewöhnliche physiologische Kochsalzlösung als Verdünnungsflüssigkeit gewählt. Dann traten auch die beschriebenen Krankheitserscheinungen nicht mehr auf.

Versuch vom 11. III. 1911.

Meerschweinchen Nr. 3. Gewicht 450 grm. Drüsenschwellung.

Uhr	Temperatur	
12·28	36·5	
12·30		Tub. Koch 0·1 iv.
12·33	35·2	
1·40	38·6	
3·28	39·7	
5·30	37·0	

† Nachts 11. bis 12. III.

Obduktion: Linke Kniefalte markige Drüsen. Bauchhöhle: Flüssigkeit und Stränge. Leber: Viele kleine Tuberkel (?). Ein Stück überimpft auf Meerschweinchen: Ersatz 3 (Gewicht 460 grm) am 13. III. 11. Dieses Tier wurde tuberkulös und starb spontan am 25. VII. 11.



Meerschweinchen Nr. **13.** Gewicht: 340 grm. Drüsenschwellung.

Uhr	Temperatur	
12·36	37·6	
12·39		Tub. Koch 0·1 iv.
12·42	35·9	
1·43	39·5	
3·30	37·5	
5·52	†	

Obduktion: Linke Kniefalte (Injektionsseite) zeigt markige Drüsen. Leber dunkelrot. Milz miliarähnliche Aussaat. Davon ein Ersatztier subkutan geimpft. Dieses wird tuberkulös und starb spontan am 13. VIII. 11.

Meerschweinchen Nr. **23.** Gewicht: 380 grm.

Uhr	Temperatur	
12·46	37·4	
12·48		Tub. Koch 0·1 iv.
12·50	36·2	
1·46	39·4	
3.32	39·2	
5·35	38·3	

Macht noch am nächsten Tage matten und kranken Eindruck. Lebt am 14. IX. 11 noch.[1]

Versuch vom 13. III. 1911.

Meerschweinchen Nr. **4.** 0·5 Tub. Koch unverdünnt injiziert; erhält also Karbol. Gewicht: 420 grm. Drüsenschwellung.

Uhr	Temperatur	
11·57	37·3	
12·00		Tub. Koch 0·5 iv. sofort vorübergehende Zitterkrämpfe (Karbol).
12·03	36·1	
1·00	38·0	
1·35	37·3	
2·40	38·4	
4·00	35·8	
5·20	< 35·0	
6·30	†	

Obduktion am 14. III.: Leber und Milz miliare Aussaat. Frische Peritonitis mit Flüssigkeit der Bauchhöhle. Eine Aortendrüse innen verkäst.

Meerschweinchen Nr. **14.** Gewicht: 370 grm. Drüsenschwellung.

Uhr	Temperatur	
12·06	38·0	
12·08		Tub. Koch 0·5 iv. sofort vorübergehende Zitterkrämpfe (Karbol).
12·16	36·7	
1·00	36·6	
1·35	38·2	

[1] Anm. b. d. Korr.: Lebt am 6. XI. 11 noch.

Uhr	Temp.	Uhr	Temp.	
2·40	39·0	6·30	38·1	
4·00	37·8	9·30	37·8	Matt, krank; erholte sich.
5·20	37·9			Lebt am 14. IX. 11 noch.[1]

Meerschweinchen Nr. **24.** Gewicht: 350 grm. Offenes Ulkus.

Uhr	Temperatur	
12·14	37·6	
12·17		Tub. Koch 0·5 iv. sofort Krämpfe, dauernd, legt sich bald zur Seite.
12·19	35·9	
1·00	37·0	
1·35	38·2	Erhebt sich und putzt sich.
2·40	38·8	(Offenbar nicht nur Karbol.)
4·00	37·4	
5·20	35·7	
6·30	<35·0	
vor 9·30	†	

Obduktion: Offenes Ulcus der Injektionsstelle. Dort in der linken Kniefaltendrüse innen verkäste Drüsen. Leber: Miliare Tuberkeln. Portale und Aortendrüsen geschwollen.

Versuche vom 14. III. 1911.

Meerschweinchen Nr. **5.** Gewicht: 410 grm. Ulkus.

Uhr	Temperatur	
12·39	37·8	
12·41		Tub. Koch 0·05 iv. matt.
12·43	37·1	
1·45	40·2	
3·00	40·0	
5·30	35·8	
6·10	<35·0	
	Abends †.	

Obduktion am 15. III.: Dickes Ulkus mit käsigem Abszeß an der linken Kniefalte. Peritonealerguß. Miliare Aussaat der Leber. Portalen und mesenterialen Drüsen geschwollen.

Meerschweinchen Nr. **15.** Gewicht: 430 grm. Drüsen.

Uhr	Temperatur	
12·46	37·8	
12·48		Tub. Koch 0·05 iv.
12·50	36·1	
1·45	39·0	
3·00	38·5	
5·30	37·8	
6·10	37·4	

Spontan gestorben am 23. VIII. 11.

[1] Anm. b. d. Korr.: Am 18. X. 11 spontan gestorben. Obduktion ergab: Schwellung der l. Kniefaltendrüse und Aortendrüse. Vereinzelte Tuberkel der Leber.



Obduktion: Verheiltes Ulkus mit Infiltration der Umgebung. Regionäre Leistendrüse geschwollen mit käsigen Einsprengungen. Leber: Einzelne, nicht sehr zahlreiche Tuberkel. Linke Aortendrüse geschwollen. Milz frei. Lungen und Nieren ohne Befund.

Meerschweinchen Nr. **25**. Injektion mißglückt. Lebt am 14. IX. 11 noch.[1]

Versuche vom 23. V. 1911.

Meerschweinchen Nr. **6**. Gewicht: 520 grm. Erbsengroße Drüsen an der linken Seite.

Uhr	Temperatur	
11·45	36·9	
11·50		Tub. Koch 0·01 iv.
11·53	35·4	
12·35	37.5	
1·45	38·5	
2·50	39·3	
4·00	38·5	
6·45	38·0	Lebt am 14. IX. 11 noch.[2]

Meerschweinchen Nr. **16**. Gewicht: 560 grm. Verschorftes Ulkus.

Uhr	Temperatur	
12·02	36·7	
12·10		Tub. Koch 0·01 iv.
12·12	35·4	
12·38	38·0	
1·48	38·7	
2·53	38·5	
4·02	39·0	
6·47	38·2	Spontan gestorben am 2. VIII. 11.

Sektionsbefund: Gereinigtes Ulkus der Impfstelle. Spärliche Tuberkelaussaat der Leber. Regionäre Drüsen markig geschwollen. Steinbildung im Nierenbecken beiderseits. Keine Nierentuberkulose. Kniefaltendrüsen geschwollen.

Meerschweinchen Nr. **26**. Gewicht: 510 grm. Drüsen in der l. Kniefalte.

Uhr	Temperatur	
12·16	37.5	
12·25		Tub. Koch 0·01 iv.
12·30	35·0	
1·50	37·4	
2·54	38·0	
4·05	38·3	
6·49	37·9	Spontan am 29. VII. 11 gestorben.

Sektionsbefund: Schwellung der linken Kniefaltendrüsen. Geringe Schwellung der Aortendrüsen. In den Organen keine sichtbaren Veränderungen.

[1] Anm. b. d. Korr.: Lebt am 6. XI. 11 noch.

[2] Anm. b. d. Korr.: Am 16. X. 11 spontan gestorben. Obduktion: Linke Kniefaltendrüse geschwollen. Linke Aortendrüse fast walnußgroß, total verkäst.



Versuche vom 24. V. 1911.

Meerschweinchen Nr. **7.** Gewicht: 510 grm. Kleine Drüsen.

Uhr	Temperatur	
12·11	37·2	
12·14		Tub. Koch 0·1 iv.
12·17	35·9	
2·45	38.9	
3·47	37·5	
4·50	< 34.7	
6·40	< 32·9	In der Nacht †.

Obduktion am 26. V. 11: Dichte miliare Aussaat der Leber. Milz normal groß und wenige Tuberkel. Eine rechtsseitige Kniefaltendrüse korngroß, innen Käse. Aortendrüse erbsgroß, käsig. Lungen frei.

Meerschweinchen Nr. **27.** Gewicht: 540 grm. Schw. Drüsen.

Uhr	Temperatur	
12·22	37·8	
12·25		Tub. Koch 0·1 iv.
12·27	36·5	
2·47	38·1	
3·49	39·2	
4·50	38·4	
6·42	37·2	Spontan am 17. VI. 11 gestorben.

Sektionsbefund: Tuberkulöser subkutaner Abszeß vom linken Schenkel bis zum Unterbauch sich erstreckend. Dort doppelter Durchbruch. Geringe Tuberkelaussaat der Leber. Aszites. Kniefaltendrüsen links verkäst. Rechte geschwollen. Desgl. Aortendrüsen und mesenterialen.

Versuch vom 26. V. 1911.

Meerschweinchen Nr. **8.** Gewicht: 460 grm. Gereinigtes Ulkus am linken Oberschenkel, rechts große Kniefaltendrüsen.

Uhr	Temperatur	
12·20	38·4	
12·25		Tub. Koch 0·05 iv. ($^1/_{10}$·0·5).
12·27	36·8	
1·30	39·3	
2·30	38·9	
3·35	< 33·9	
5·00	†	

Obduktion: Leber ist miliar dicht mit Tuberkeln durchsetzt. Milz nichts. Lunge nichts. Rechte und linke Kniefaltendrüse nur markig, desgl. Aortendrüse. Gereinigtes Ulkus am linken Schenkel.



Versuche vom 30. V. 1911.

Meerschweinchen Nr. **9.** Gewicht: 520 grm. Gereinigtes Ulkus am linken Schenkel.

Uhr	Temperatur	
11·53	37·0	
11·56		Tub. Koch 0·25 iv. (1/4·1·0) Schreikrämpfe sofort.
11·58	35·3	
1·16	37·9	
2·20	38·9	
3·30	36·1	
4·40	34·0	
6·00	32·1	
	Nachts †.	

Obduktion: Miliare Lebertuberkulose. Portale und Mesenterialdrüsen geschwollen. Aszites. Linke Kniefaltendrüse geschwollen, mit Einsprengungen.

Meerschweinchen Nr. **19.** Gewicht: 470 grm. Linke Kniefaltendrüse palpabel.

Uhr	Temperatur	
12·02	37·8	
12·04		Tub. Koch 0·25 iv.
12·06	35·5	
1·18	37·7	
2·22	39·2	
3·30	37·9	Matt.
4·40	35·3	
6·00	<34·4	
	Nachts †.	

Obduktion: Tuberkeln in Milz und Leber vereinzelt. Aszites. Ulkus gereinigt. Linke Kniefaltendrüse und Aortendrüse, desgl. die portalen geschwollen.

Meerschweinchen Nr. **29.** Gewicht: 480 grm. Kleines belegtes Ulkus an der linken Kniefalte.

Uhr	Temperatur	
12·12	37·7	
12·14		Tub. Koch 0·5 iv. (1/2·1·0).
12·16	37·2	
1·20	38·6	
2·25	39·4	
3·30	39·5	
4·40	38·2	
6·00	37·2	Etwas matt.
	Spontan † am 2. IX. 11.	

Obduktionsbefund: Verheiltes Ulkus der Infektionsstelle. Darunter ein haselnußgroßer verkäster Abszeß. Linke Kniefaltendrüse geschwollen. Aortendrüsen desgl. Aszites. In der Leber ganz vereinzelte Tuberkel. Milz klein und frei. Ebenso Lungen.



Besser als alle Worte orientiert die folgende Tabelle über die Resultate der letzten Untersuchungsreihe:

Meerschweinch.-Nummer	Gewicht vor der Injektion	Gewicht vor der Reïnjektion	Subkutan vorbehandelt mit Tub.-Bazillen-Kultur in grm	Reïnjiziert		Reaktion	
				nach Tagen	iv. mit Tub. Koch	Stärke	Art
1	390	470	0·000 017	40	0·001	+	↓
2	390	420	0·000 017	41	0·01	++	↓ ↑
6	350	520	0·000 017	115	0·01	++	↓ ↑
5	360	410	0·000 017	45	0·05	+++	↑ †
8	370	460	0·000 017	118	0·05	+++	↓ ↑ †
3	430	450	0·000 017	42	0·1	+++	↓ ↑ †
7	350	510	0·000 017	116	0·1	+++	↓ ↑ †
9	370	520	0·000 017	126	0·25	+++	↓ ↑ †
4	400	420	0·000 017	44	0·5	+++	↓ ↑ †
10	350	—	0·000 017	—	—	—	
11	400	400	0·000 0017	40	0·001	+	0
12	380	390	0·000 0017	41	0·01	++	↑
16	320	560	0·000 0017	115	0·01	++	↓ ↑
15	330	430	0·000 0017	45	0·05	+	↑
18	300	—	0·000 0017	—	—		
13	310	340	0·000 0017	42	0·1	+++	↓ ↑ †
17	350	—	0·000 0017	—	—		
19	350	470	0·000 0017	126	0·25	+++	↓ ↑ †
14	320	370	0·000 0017	44	0·5	++	↓ ↑
20	300	—	0·000 0017	—	—		
21	370	420	0·000 00017	40	0·001	+	0
22	300	370	0·000 00017	41	0·01	++	↑
26	300	510	0·000 00017	115	0·01	+	↓ ↑
25	300	420	0·000 00017	45	—		
28	300	—	0·000 00017	—	—		
23	310	380	0·000 00017	42	0·1	++	↑
27	290	540	0·000 00017	116	0·1	++	↑
29	320	480	0·000 00017	126	0·5	++	↑
24	300	350	0·000 00017	44	0·5	+++	↓ ↑ †
30	300	—	0·000 00017	—	—		

Zeichenerklärung:

+ = milde Reaktion.
++ = mittlere „
+++ = starke „
↓ = Temperatursenkung.
↑ = Temperaturanstieg.
† = Exitus letalis im Anschluß an die Reïnjektion.



Die Resultate bei der intravenösen Injektion des Tuberkulins gleichen im wesentlichen denen bei der intraperitonealen. Doch ist zu bemerken, daß ich bei jener niemals einen Temperatursturz ohne vorangegangene Fiebersteigerung erlebt habe. Das liegt aber vielleicht an der milden Infektion in dieser Versuchsreihe, die eine extrem starke Tuberkulinreaktion gar nicht aufkommen ließ. Wir können uns demgemäß auch sehr wohl vorstellen, daß bei starker Virulenz der Infektion und bei hohen Tuberkulindosen tatsächlich auch ein schneller Tod unter Temperatursturz, wie bei der Eiweißanaphylaxie zur Beobachtung kommt.

Aus der Tabelle ist deutlich ersichtlich, daß die Stärke der Infektion auf den Tuberkulineffekt von Bedeutung ist. Der Einfluß der Zeit zwischen der Erstinjektion (der Bazillen) und der Zweitinjektion (des Tuberkulins) ist nicht zu erkennen. Das erklärt sich auch aus dem langsamen Verlauf der Tuberkulose in diesen Fällen.

Versuch vom 23. VI. 1911.

Meerschweinchen Nr. 1. Gewicht: 510 grm. Ulkus. Vorbehandlung siehe vorher. Zum zweiten Male nachbehandelt.

Uhr	Temperatur	
10·30	37·8	
10·31		Tub. Koch 0·5 iv. Zitterkrämpfe.
10·33	36·8	
10·50	37·5	
11·24	39·9	
12·16	39·1	
1·00	36·5	
1·56	35.6	
2·30	†	

Obduktion: Sehr dichte miliare Aussaat von Tuberkeln in der Leber. Weniger dicht in der vergrößerten Milz. Eine linke Kniefaltendrüse. Aortendrüse markig geschwollen. Lungen frei, nicht gebläht.

Meerschweinchen Nr. 11. Gewicht: 500 grm. Ulkus. Vorbehandlung siehe vorher. Zum zweiten Male nachbehandelt.

Uhr	Temperatur	
10·38	36·8	
10·42		Tub. Koch 0·5 iv. daneben.
10·44	35·8	
11·26	37·4	
12·10	38·8	
1·00	38·9	
1·50	39·5	
3·00	39·4	
6·15	38·5	
6·30	37·2	

† am 20. VII. 11.



Obduktion: An der Haut ein gereinigtes Ulkus. Darunter eine mit Käse gefüllte abszedierte Drüse. An den Organen keine makroskopisch nachweisbaren Tuberkel.

Meerschweinchen Nr. **21**. Gewicht: 470 grm. Geheiltes Ulkus. Drüsenpakete. Vorbehandlung siehe vorher. Zum zweiten Male nachbehandelt.

Uhr	Temperatur	
10·50	37·5	
10·53		Tub. Koch 1·0 iv.
10·55	37·3	
11·28	38·2	
12·12	39·1	
1·02	39·6	
1·52	39·9	
3·00	39·4	
5·17	38·1	
6·30	37·2	Nachts †.

Obduktion: Peritonitis. Miliartuberkulose der Leber. Milz nicht vergrößert. Aortendrüse hart mit Käseherd. Lungen lufthaltig, nicht gebläht, frei.

Kontrollen der nicht nachbehandelten, mit T.-B. infizierten Tiere.

10. VII. 1911. Meerschweinchen Nr. **10** ist morgens am 10. VII. 11 spontan gestorben.

Obduktion: Verheiltes Ulkus. Leber durchsetzt mit feinen Tuberkeln. Milz klein und frei. Im Peritoneum wenig Flüssigkeit. Aortendrüse markig geschwollen. Kniefaltendrüse links markig geschwollen. In der Lunge vereinzelte Tuberkeln.

23. VIII. 1911. Meerschweinchen Nr. **20** spontan gestorben am 23. VIII.

Obduktion: Ulkus verheilt. Links Leistendrüse geschwollen und käsig. Linke Aortendrüse geschwollen und verkäst. Leber dicht durchsetzt mit kleinen Tuberkeln. Lungen und Nieren frei. Milz vielleicht wenig vergrößert. Portaldrüse markig geschwollen.

Meerschweinchen Nr. **30** lebt am 14. IX. 11 noch.[1]

Kontrollen der nicht mit T.-B. vorbehandelten, aber mit Tuberkulin injizierten Tiere.

Intravenös injizierte Tiere:

Versuche vom 28. VIII. 1911.

Meerschw. **601**. Gewicht: 520 grm.

Uhr	Temperatur	
12·38	36·7	
12·40		1·0 Tub. Koch iv. Zitterkrämpfe.
12·45	36·3	
2·15	36·0	
3·15	36·6	
4·15	37·5	
5·30	38·6	
6·30	38·6	

[1] Anm. b. d. Korr.: Lebt am 6. XI. 11 noch.



Meerschw. **602**. Gewicht: 570 grm.

Uhr	Temperatur	
12·51	37·9	
12·53		0·1 Tub. Koch iv.
12·57	37·5	
2·17	38·5	
3·15	38·2	
4·17	38·0	
5·32	38·1	
6.32	37·5	

Meerschw. **603**. Gewicht: 530 grm.

Uhr	Temperatur	
1·02	38·0	
1·05		0·01 Tub. Koch iv.
1·10	37·2	
2·19	37·4	
3·17	37·7	
4·19	37·7	
5·36	37·4	
6·34	37·4	

Versuche vom 29. VIII. 1911.

Meerschw. **604**. Gewicht: 370 grm.

Uhr	Temperatur	
9·58	38·2	
10·01		0·5 Tub. Koch iv. Zitterkrämpfe.
10·04	37·3	
11·30	38·3	
12·20	38.9	
2·00	39·2	
3·00	39·7	
5·00	39·2	

Meerschw. **605**. Gewicht: 390 grm.

Uhr	Temperatur	
10·08	38·7	
10·10		0·05 Tub. Koch iv.
10·12	37·7	
11·32	38·5	
12·22	38·4	
2·02	37·5	
3·00	37·0	
5·00	37·5	

Meerschw. **606**. Gewicht: 270 grm.

Uhr	Temperatur	
10·16	37·0	
10·18		0·005 Tub. Koch iv.
10·20	36·4	
11·34	38·7	
12·24	38·1	
2·04	37·4	
3·00	37·3	
5·00	37·0	

Versuche vom 30. VIII. 1911.

Meerschw. **607**. Gewicht: 640 grm.

Uhr	Temperatur	
9·54	37·5	
9·56		0·2 Tub. Koch iv.
9·59	37·1	
11·00	39·2	
12·00	38·3	
1·05	37·9	
2·30	37·8	
4·00	37·8	
5·00	37·4	

Meerschw. **608**. Gewicht: 430 grm.

Uhr	Temperatur	
10·05	37·7	
10·07		0·5 Tub. Koch iv. Schreikrämpfe.
10·09	36·8	
11·00	38·5	
12·00	38·2	
1·05	39·1	
2·30	39·4	
4·00	39·5	
5·00	38·4	

Intraperitoneal mit Tuberkulin gespritzte gesunde Tiere:

Versuche vom 4. IX. 1911.

Meerschw. **609**. Gewicht: 420 grm.

Uhr	Temperatur	
9·00		1·0 Tub. Koch ip.
9·04	37·1	
9·40	34·2	
10·15	34·7	
10·45	34·7	
11·45	37·1	
1·30	37·9	
3·00	38·1	
5·10	38·2	

Meerschw. **610**. Gewicht: 370 grm.

Uhr	Temperatur	
9·08	37·2	
9·09		0·1 Tub. Koch ip.
9·00	36·3	
9·40	36·7	
10·15	36·3	
10·45	37·0	
11·45	37·2	
1·30	37·3	
3·00	37·0	
5·10	36·9	

Meerschw. **611**. Gewicht: 350 grm.

Uhr	Temperatur	
9·11	37·9	
9·13		0·01 Tub. Koch ip.
9·14	37·2	
9·45	37·7	
10·17	37·1	
10·47	37·3	
11·47	37·2	
1·32	36·7	
3·00	37·3	
5·12	37·7	

Versuche vom 5. IX. 1911.

Meerschw. **612**. Gewicht: 370 grm.

Uhr	Temperatur	
9·46	35·9	
9·48		0·1 (1/10 1·0) Tub. Koch ip.
9·50	35·0	
10·35	34·1	
11·00	34·2	
11·45	34·0	
12·20	35·5	
1.25	36·0	
2·35	36·7	
4·00	36·5	
5.30	37·1	

Meerschw. **613**. Gewicht: 350 grm.

Uhr	Temperatur	
9·50	37·1	
9·51		0·2 (1/5 1·0) Tub. Koch ip.
9·52	36·5	
10·35	35·7	
11·02	35·1	
11·45	36·9	
12·20	37·2	
1·25	37·5	
2·35	38·5	
4·00	37·7	
5·31	37·6	

Meerschw. **614**. Gewicht: 370 grm.

Uhr	Temperatur	
9·54	36·9	
9·55		0·33 (1/3 1.0) Tub. Koch ip. Karbolzittern
9·56	35·4	
10·37	35·2	
11·04	35·0	
11·47	36·4	
12·22	37·1	
1·27	37·7	
2·37	38·0	
4·00	37·4	
5·32	37·4	

Als Kontrollen können auch die folgenden Versuche gelten:

Versuche vom 26. IV. 1910.

Meerschweinchen Nr. **539**, Gewicht: 300 grm, wurde am 11. III. mit 0·0036 ccm einer älteren Tuberkelbazillenkultur M. B. auf 1:1000 verdünnt, subkutan am rechten Oberschenkel infiziert. Lokal nichts fühlbar. Kein Ulkus. Heute Gewicht: 425 grm.

Uhr	Temperatur (Mastdarm)	
9·50	36·4	
11·00	36·4	
11·10		Tub. Koch ip. 0·1 ccm.
11·20	35·0	
11·50	35·0	
12·30	35·0	
1·30	36·3	
3·45	37·8	
6·15	37·4	

Getötet am 28. IV. 1910. Obduktionsbefund: Frei von Tuberkulose.

Meerschweinchen Nr. **540**. Gewicht: 290 grm, gleichzeitig und ebenso infiziert. Heute Gewicht: 400 grm.

Uhr	Temperatur	
9·50	38·2	
11·00	37·9	
11·10		1·0 Tub. Koch ip., kurze Lähmung der hinteren Extremitäten.
11·20	36·3	
11·50	34·9	
12·30	34·3	
1·30	34·3	
3·45	34·4	
6·15	35·3	erholt sich.

Getötet am 28. IV. 1910 3^h 50 nachm. Obduktionsbefund: Keine Tuberkulose.

Diese beiden Meerschweinchen waren also nicht tuberkulös geworden, da die Kultur, wie sich weiter erwies, zu alt und nicht mehr infektionstüchtig war. Diese Versuche können mit als Kontrolluntersuchungen betrachtet werden. Die geringen Krankheitserscheinungen des Tieres Nr. 540 nach der Injektion lassen sich auf Schäden des in 1 ccm Tuberkulin enthaltenen Karbols zurückführen.



Schlußsätze.

1. Mit Tuberkelbazillen infizierte Meerschweinchen reagieren auf Tuberkulin bei intraperitonealer wie bei intravenöser Einverleibung mit Temperaturschwankungen. Sie zeigen bei kleineren Dosen Tuberkulins Fieber, bei mittleren: Fieber und folgenden Temperaturabfall bis zum Tode. Bei großen Dosen Tuberkulins erfolgt der letale Ausgang nach direktem Temperatursturz.

2. Die Anspruchsfähigkeit auf Tuberkulin hängt mit der Virulenz der infizierenden Tuberkelbazillen und mit der Ausbreitung des tuberkulösen Prozesses zur Zeit der Tuberkulininjektion zusammen.

3. Indem auf kleine Mengen Fieber, auf große hingegen Temperatursturz erfolgt, ähnelt die Tuberkulininjektion beim Meerschweinchen der Eiweißanaphylaxie bei diesem Tiere.

4. Andere Symptome der Eiweißanaphylaxie fehlen bei der Tuberkulinreaktion. So der Komplementschwund und die Lungenblähung. Auch ist der Tod unter Temperatursturz niemals in der Plötzlichkeit wie beim eiweißanaphylaktischen Shok beobachtet worden.



[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
(Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Lentz.)

Über den Erreger und die Diagnose des Maltafiebers.

Von

Oberstabsarzt Dr. **K. Saisawa**
aus Japan.

(Hierzu Taf. II.)

Seit **Bruce** im Jahre 1887 im Blute von Maltafieberkranken und in der Milz von an Maltafieber gestorbenen Patienten einen Coccus entdeckt und diesen als den Erreger der Krankheit beschrieben hat, beschäftigten sich besonders englische Autoren mit der weiteren Erforschung dieser Krankheit. Von allen Forschern wurde der von **Bruce** gefundene Mikrobe zweifelfrei als Erreger der Krankheit anerkannt. Nur über seine Stellung im Bakteriensystem gehen die Ansichten der Autoren auseinander. Anderseits finden sich in der Literatur z. T. so merkwürdige und unseren Kenntnissen derselben Verhältnisse bei anderen Infektionskrankheiten widersprechende Angaben über die diagnostische Bedeutung der Agglutinationsreaktion des Krankenserums, daß es auch aus diesem Grunde lohnend erschien, in die nochmalige Prüfung dieser Fragen einzutreten. Ich habe deshalb auf Veranlassung und unter Leitung von Hrn. Prof. Dr. **Lentz** systematische Untersuchungen über den Erreger des Maltafiebers angestellt. Zur Verfügung standen mir vier von ihm gesammelte Stämme des Maltafiebererregers, und zwar je ein Stamm von **Wright**, aus dem Blute eines Kranken gezüchtet, und von **Nicolle** (Tunis), von einer Ziege stammend, und zwei von **Bitter** (Cairo), Bitter III und V, ebenfalls von Ziegen stammend; außerdem ein von Prof. **Kràl** mir in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellter Stamm. Ferner habe ich selbst aus dem Blute einer an Maltafieber erkrankten Patientin der Berliner Charité einen weiteren Stamm des Maltafiebererregers frisch gezüchtet, so daß ich zwischen diesem und den älteren Laboratoriumsstämmen Vergleiche anstellen konnte.

Morphologie.

Ob der Erreger des Maltafiebers zu den Kokken oder Bazillen zu zählen ist, darüber sind die Autoren verschiedener Meinung. Die meisten



englischen Autoren, wie Bruce, Eyre u. a. rechnen ihn zu den Mikrokokken. Die auch von ihnen beobachteten länglichen, also bazillären Formen nannten sie Kokkobazillen und nahmen zur Erklärung ihrer Form an, daß sie junge, in der Zweiteilung begriffene Individuen seien, deren Trennung noch nicht vollzogen wäre. Die in alten Kulturen auf Gelatine usw. oder auf Nährböden mit ungeeigneter Reaktion gefundenen Stäbchen betrachteten sie dagegen als Involutionsformen. Durham hat in Gelatine- oder Bouillonkultur und Babes auch in 2tägiger, also immerhin älterer Bouillonkultur ebenfalls solch charakteristisches bazilläres Wachstum konstatiert. Der letztere hat infolgedessen den Namen Microbacterium melitense statt Micrococcus melitensis vorgeschlagen. Ebenso bezeichnet Gottschlich den Erreger des Maltafiebers als Bacillus.

Bei meinen Untersuchungen zeigten sowohl alle Laboratoriumsstämme, als auch der von mir gezüchtete frische Stamm meistens kurze Stäbchen, kürzer als Influenzabazillen, worauf ich nach der Beschreibung über das Wachstum auf künstlichen Nährböden noch näher zurückkomme. Alle Stämme ließen Eigenbewegung vermissen; es sind durch die Zettnowsche Färbung keine Geißeln festzustellen, aber im hängenden Tropfen kann man lebhafte molekulare Bewegung beobachten. Sporen- und Kapselbildung habe ich nie bemerkt. Die Bazillen werden sehr gut durch basische Anilinfarbstoffe gefärbt, besonders durch Karbolfuchsin, Löfflersche Methylenblau- und Fuchsinlösung; sie sind weder alkohol- noch säurefest und gramnegativ.

Kulturelles Verhalten.

Auf schwach alkalischem Fleischwasserpeptonagar wachsen innerhalb 48 bis 72 Stunden im Brutofen bei 37° C kleine Kolonien. Sie sind rundlich, durchsichtig, kleinen Wassertropfen ähnlich. Allmählich werden sie größer, erreichen nach einer Woche Stecknadelkopfgröße und darüber und zeigen eine gelbliche bis bräunliche Farbe. Die auf Gelatine gezüchteten Kolonien werden erst nach 7 bis 9 Tagen sichtbar. Tief gelegene Kolonien sind gewöhnlich rund, manchmal zeigen sie Linsenform. Es findet keine Verflüssigung statt, und es entwickelt sich kein Geruch. Bei der Stichkultur in Gelatine und Agar wachsen die Bakterien längs des Stichkanals etwa bis zu $^3/_4$ seiner Länge; sie zeigen in der Nähe der Oberfläche ein besseres Wachstum, im unteren Teil läßt es allmählich nach. In strenger Anaerobenkultur gedeihen die Bakterien nicht. In Bouillon rufen sie nach 2 Tagen eine zunächst gleichmäßige leichte Trübung hervor. Nach Verlauf von einigen Tagen jedoch zeigt sich an der Oberfläche deutlich eine stärkere Trübung als in den tieferen Schichten. Später entsteht ein geringer feinkörniger Bodensatz; eine Kahmhaut bildet



sich nicht. In alter Bouillonkultur macht sich ein fader Geruch bemerkbar. In Milch entwickeln sich die Bakterien gut. Es tritt keine Koagulation ein. Nach 4 Wochen hellt sich aber die Milch deutlich auf wie bei der Kultur des Paratyphus. Auf Kartoffeln zeigen die Stämme ein kümmerliches Wachstum und bilden später einen grauen oder schmutziggelben Belag. Lackmusmolke wird nach etwa 4 Tagen blau, woraus sich auf Alkalibildung schließen läßt. In 1 prozentiger Peptonlösung wachsen die Bazillen schlecht. In Pepton- oder Bouillonkultur läßt sich keine Indolbildung nachweisen. In Traubenzucker- und Neutralrot-Traubenzucker-Agar tritt keine Gasbildung ein, das Wachstum ist auf diesen Nährböden gut. Nach 7 bis 10 Tagen tritt in den Neutralrotröhrchen in der Nähe der Oberfläche eine schwach gelbliche Verfärbung ein. In verschiedenen 1 Prozent kohlehydrathaltigen Nährböden (2 Prozent Pepton-, 1 Prozent Nutroselackmuslösung) konnte ich keine Säurebildung beobachten; dagegen zeigten Dextrose- und Laktoseröhrchen nach 8 Tagen eine blaue Farbe, während Maltose, Lävulose, Saccharose, Mannit, Dextrin, Gallaktose, Isodulcit, Inulin und Inosit unverändert blieben. Diese Resultate stimmen mit denen von Eyre überein. Auf Löfflerschem Serum (Rinderserum) wachsen die Bakterien unter Bildung einer mehr weißlichen Kultur, ohne Peptonisierung des Nährbodens. Auf den verschiedenen tierischen und menschlichen Seris, sowie bluthaltigen Nährböden wachsen sie etwas besser als auf gewöhnlichem Agar. Um die besten und geeignetsten Nährböden zu finden, habe ich außer den oben erwähnten Seris und bluthaltigen Medien (besonders Taubenblut, Ziegenblut), Nährböden aus Ascitesflüssigkeit und wässerigem Extrakt aus der Milz, Leber und dem Fleisch eines Hammels, ferner Nährböden aus der Molke von Ziegenmilch, sowie noch verschiedene zuckerhaltige Nährböden untersucht. Am besten entwickelten sich die Bakterien auf dem von mir hergestellten Traubenzucker (1 Prozent)-Chapoteaut-Pepton (2 Prozent)-Agar, und ebensogut auf dem von Hughes, Horrocks und Kennedy empfohlenen Traubenzucker-Lackmus-Nutrose-Pepton-Agar. Im allgemeinen wachsen die beiden von Bitter erhaltenen Stämme, sowie der aus dem Blute der Patientin gewonnene langsamer als die anderen Stämme.

Wenden wir uns nun noch einmal der Bakterienform zu, so muß ich vorausschicken, daß ich zu ihrem Studium möglichst junge Kulturen (16 Std.) und von auf festen Nährböden gewachsenen ganz isolierte Kolonien sowohl frisch im hängenden Tropfen, als auch in getrocknetem und gefärbtem Zustande untersucht habe. In letzterem Falle wurde das Präparat an der Luft schnell getrocknet, durch eine Flamme ganz vorsichtig fixiert und mit den verschiedenen basischen Anilinfarbstoffen gefärbt. In den hängenden Tropfen der Kochsalzlösungsemulsion findet man



außer ganz kleinen, kokkenähnlichen Bakterien, die in Länge und Breite nur geringe Unterschiede zeigen, auch eine ganze Anzahl von deutlich erkennbaren Stäbchen. Hie und da bilden 5 bis 8 Individuen kleine Ketten. Bei den aus den Wrightschen und Nicolleschen Stämmen gewonnenen Kulturen, welche üppig wachsen, überwiegen die Stäbchen; dagegen war bei den Kulturen, die aus den Bitterschen Stämmen, sowie aus dem von der Kranken gewonnenen Stamm gezüchtet waren, ein langsames Wachstum und ein Überwiegen der Kokkenform festzustellen. Im gefärbten Präparat erscheinen die Bakterien etwas kleiner als im hängenden Tropfen. Die kokkenartigen Individuen haben eine Länge von ca. 0·3 bis 0·45 μ und eine Breite von 0·2 bis 0·3 μ. Die Stäbchen erreichen eine Länge von etwa 0·5 bis 0.7 μ, manchmal sogar 1·0 μ. Die längeren Formen zeigen nicht selten eine Andeutung von Polfärbung. Daß ein langsames Trocknen des Deckglaspräparates eine auffallende Verlängerung der Bazillen zur Folge hätte, wie Eyre das angibt, konnte ich nicht beobachten. Bei der Geißelfärbung nach Zettnow, bei welcher sich bekanntlich das reduzierte Silber um das Ektoplasma des Bacteriums lagert, so daß das Bakterium vergrößert erscheint, tritt die Stäbchenform auch bei den kokkenähnlichen Individuen noch deutlicher hervor (vgl. Taf. II, Fig. 1), während zur Kontrolle ebenso behandelte Staphylokokken stets eine kreisrunde Form zeigen (vgl. Taf. II, Fig. 2). Stellt man das Präparat aus jungen isolierten Kolonien her, welche im oberen Abschnitt eines Schrägagarröhrchens liegen, wo dessen Oberfläche ganz trocken ist, so zeigen fast alle Bakterien kokkenähnliche Form (vgl. Taf. II, Fig. 3); dagegen zeigt das Präparat von den Kolonien, welche im unteren Teil in der Nähe des Kondenswassers liegen, meistens Stäbchenform (vgl. Taf. II, Fig. 4).

Die auf frische Nährböden überpflanzten Kulturen zeigen, gleichgültig von welchen der Kolonien sie angelegt werden, wieder teils Kokken- teils Stäbchenformen. Die mitgeteilten Beobachtungen legen den Schluß nahe, daß die Bakterien unter günstigeren Bedingungen in Stäbchenform wachsen. In Bouillon sieht man ungefärbt außer isolierten Kokken und Stäbchen, Diploformen, Kettenbildung, verdickte, ovale und kolbige Formen, wie es Babes und Durham beschrieben haben. In Gelatinekulturen bemerkt man ebenfalls nicht nur Kokken, sondern auch eine große Anzahl von kurzen Stäbchen. Es wurde also auf allen Nährmedien ein reichliches Vorkommen der Stäbchenform konstatiert, ohne daß aus dem Alter der Kultur oder sonstigen Merkmalen der Schluß gerechtfertigt gewesen wäre, daß in der Kultur bereits wesentliche Degenerationsvorgänge Platz gegriffen hätten. Deshalb und vor allem auch auf Grund des Ergebnisses der Ektoplasmafärbung bin auch ich mit Babes und Gottschlich der Überzeugung, daß beim Erreger des Maltafiebers ebenso wie



beim Prodigiosus die Stäbchenform die normale ist, und er daher den Kurzstäbchen (Kokkobazillen) zugezählt werden muß. Ich möchte ihn deshalb, dem Vorgange von Babes folgend, auch als Microbacterium oder kurz Bacterium melitense bezeichnen; die alte Bezeichnung als Micrococcus melitensis muß ich, da sie zugleich eine falsche Klassifizierung dieses Erregers enthält, als unrichtig ablehnen.

Tierversuche.

Eyre und Durham haben die Bakterien des Maltafiebers an Nagetieren intrakraniell, intraperitoneal, intravenös und subkutan injiziert und so ihre Pathogenität gegenüber diesen Tieren bewiesen. Ich habe die gleichen Versuche mit 3tägiger frischer Kultur an Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen vorgenommen. Die Resultate sind folgende (vgl. Tabellen Ia bis c):

Tabelle Ia. Versuch an Kaninchen.

Nr.	Gewicht in grm	Impfweise	Geimpfter Stamm und Dosis	Resultat
1	3000	intrakraniell	Stamm Wright $1^1/_2$ Öse	nach 5 Tagen tot
2	3000	„	„ Bitter III 1 „	„ 4 „ „
3	3000	„	„ Nicolle 1 „	„ 7 „ „
4	2000	intravenös	Stamm Bitter V 4 Ösen	nach 5 Tagen tot
5	2500	„	„ „ III 4 „	„ 3 „ „
6	2000	„	„ Wright 4 „	„ 6 „ „
7	2500	intraperiton.	Stamm Bitter III 4 Ösen	lebt
8	2000	„	„ „ V 4 „	„
9	2000	subkutan	Stamm Bitter V 5 Ösen	lebt
10	2000	„	„ Nicolle 5 „	„

Tabelle Ib. Versuch an Meerschweinchen.

Nr.	Gewicht in grm	Impfweise	Geimpfter Stamm und Dosis	Resultat
1	400	intrakraniell	Stamm Bitter V 1 Öse	nach 3 Tagen tot
2	450	„	„ Wright 1 „	„ 3 „ „
3	260	intraperiton.	Stamm Wright 3 Ösen	lebt
4	265	„	„ Bitter III 4 „	nach 4 Tagen tot
5	280	„	„ Charité 3 „	lebt
6	300	intravenös	Stamm Nicolle 2 Ösen	lebt
7	320	„	„ Bitter V 2 „	nach 3 Tagen tot
8	280	subkutan	Stamm Wright 4 Ösen	lebt
9	265	„	„ Bitter V 4 „	„
10	250	„	„ Charité 4 „	„



Tabelle Ic.
Versuch an Mäusen.

Nr.	Gewicht in grm	Impfweise	Geimpfter Stamm und Dosis	Resultat
1	20	intraperiton.	Stamm Wright 1·0 Öse	nach 3 Tagen tot
2	19	„	„ „ 0·5 „	„ 5 „ „
3	21	„	„ „ 0·25 „	lebt
4	19	„	„ Bitter III 1·0 „	nach 4 Tagen tot
5	20	„	„ „ 0·5 „	„ 5 „ „
6	21·5	„	„ Nicolle 1·0 „	lebt
7	24	„	„ Bitter V 1·0 „	nach 4 Tagen tot
8	25	„	„ „ 0·5 „	„ 6 „ „
9	21	„	„ Charité 1·0 „	„ 4 „ „
10	23	„	„ „ 0·5 „	lebt
11	19·5	„	„ Kràl 1·0 „	„
12	22	subkutan	Stamm Wright 2 Ösen	nach 3 Tagen tot
13	21	„	„ „ 1 Öse	lebt
14	20	„	„ Nicolle 2 Ösen	nach 5 Tagen tot
15	21	„	„ Bitter III 2 „	„ 5 „ „
16	22	„	„ „ V 1 Öse	lebt
17	21	„	„ Kràl 2 Ösen	nach 4 Tagen tot
18	24	„	„ Charité 2 „	„ 3 „ „
19	25	„	„ „ 1 Öse	lebt

Aus obigen Tabellen geht hervor, daß Kaninchen und Meerschweinchen nach intrakranieller Impfung regelmäßig binnen 3 bis 7 Tagen zugrunde gingen; die Tiere magerten dabei ziemlich stark ab. Nach intravenöser, bzw. intraperitonealer Einspritzung noch recht großer Mengen der Bakterien starb wohl noch die Mehrzahl der Tiere unter akutem Verlauf, doch blieben einige von ihnen auch am Leben; bei subkutaner Impfung dagegen starben nur einige Mäuse, dagegen kein Kaninchen und kein Meerschweinchen. Während einer 2monatlichen Beobachtung ist keines der geimpften und wiedergenesenen Tiere noch späterhin gestorben.

Die anatomischen Veränderungen bei den infolge der Impfung gestorbenen Tieren sind nur wenig charakteristisch. Bei Kaninchen und Meerschweinchen findet man nach intrakranieller Impfung die Meningen im allgemeinen getrübt und ödematös, ihre Blutgefäße strotzend gefüllt. Die Pia ist in der Umgebung der geimpften Stelle mit eitrigem Belage bedeckt. Das Gehirn ist in der Umgebung der Injektionsstelle erweicht. Die Oberfläche eines durch das Gehirn gelegten Schnittes zeigt abnorme Blutfüllung des Gehirns und zahlreiche Blutpunkte. Diese Veränderungen stimmen mit den Erscheinungen der akuten Meningitis und Encephalitis überein. An sonstigen Veränderungen fallen besonders die starke Er-

weiterung und Blutfüllung der Gefäße in der Subkutis und in den Bauchorganen auf. Die Leber und Milz sind vergrößert und blutreich. Die Niere ist etwas vergrößert. Die Lunge ist hyperämisch, das Herz dilatiert.

Bei intravenöser und intraperitonealer Injektion zeigten die Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse starke Hyperämie des subkutanen und inneren Blutgefäßsystems. Die Bauchhöhle enthält nach intraperitonealer Impfung geringe Mengen von getrübtem Exsudat, in dem sich reichlich Bakterien, z. T. intrazellulär gelagert, finden. Die Milz und Leber sind deutlich vergrößert. Bei nach subkutaner Impfung gestorbenen Mäusen ist besonders die Erweiterung und Füllung der subkutanen Blutgefäße in der Umgebung der Impfstelle auffallend. Die verimpften Bakterien konnten aus Organen — Gehirn, Lunge, Milz, Leber, Niere, Harnblase und Herzblut — wieder gezüchtet werden. Die Tiere waren also an einer Septikämie zugrunde gegangen. Bei der Sektion der am Leben gebliebenen, erst später getöteten Tiere konnte ich außer einer geringen Vergrößerung der Milz keine besonderen Veränderungen der Organe beobachten. Aus den verschiedenen Organen, besonders aus der Milz, konnte ich bei diesen Tieren die verimpften Bakterien nicht wieder herauszüchten.

Immunitätsreaktionen.

A. Agglutinationsreaktion.

Seit Wright die Agglutinationsreaktion im Serum von Maltafieberkranken festgestellt hat, wurde sie bei kranken Menschen und Tieren in großem Umfange geprüft. Basset-Smith gibt an, daß der Agglutinationstiter der Krankensera zwischen $^1/_{20}$ bis $^1/_{2000}$ schwankt, nach Nicolle ist die Schwankung größer: $^1/_5$ bis $^1/_{2000}$ und nach Hayat: $^1/_{50}$ bis $^1/_{2000}$; Shaw fand Schwankungen von $^1/_{20}$ bis $^1/_{2000}$ und Spagnolio: von $^1/_{30}$ bis $^1/_{3000}$. Diese großen Unterschiede in den Agglutinationsresultaten dürften durch den eigentümlichen Verlauf der Krankheit, sowie die individuelle Verschiedenheit der Kranken wesentlich mitbedingt werden. Wie Wright und Stefanelli mitgeteilt haben, tritt eine Erhöhung des Agglutinationsvermögens im Krankenserum bereits im Beginn der Krankheit, vom 5. Krankheitstage an, ein, also früher als man es gewöhnlich beim Typhus findet. Englische, sowie französische Autoren (Basset-Smith, Birt und Lamb, Forster, Sergent, Edmond und Bories, Nicolle, Aubert, Cantaloube, Thibault usw.) sehen bereits eine Agglutination der Maltafieberbakterien in der Serumverdünnung 1:20 oder 1:30 bei tierischen und menschlichen Seris als diagnostisch verwertbaren Titer an. Diese Angabe muß von vornherein Zweifel an ihrer Richtigkeit erregen, zumal wenn man bedenkt, welche Korrekturen die Angabe



Tabelle II.

	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Kràl	Charité	Auf 50° C erwärmtes Serum
Affe		1:50 +	1:10 +		1:50 +		
Pferd	1:20 + 1:50 ±	1:50 +	1:20 +	1:20 +			
Rind	1:10 +	1:20 +	1:10 —	1:10 —			
Esel	1:100 +	1:50 + 1:100 ±	1:10 +	1:10 + 1:20 ±	1:50 +		
Schwein . . .	1:50 +	1:50 +	1:10 —	1:10 +			
Hammel . . 1.	1:50 + 1:100 ±	1:50 + 1:100 ±	1:10 + 1:20 ±	1:20 + 1:50 ±			
2.	1:50 +	1:50 +	1:10 +	1:10 +	1:20 + 1:50 ±		1:10 negativ
3.	1:100 +	1:100 +	1:20 +	1:20 +	1:50 +	1:20 +	1:10 negativ
4.	1:20 +	1:20 + 1:50 ±	1:10 —	1:10 +	1:20 +	1:10 —	1:10 negativ
Ziege . . . . 1.	1:100 + 1:200 ±	1:50 + 1:100 ±	1:10 —	1:10 + 1:20 ±			
2.	1:50 + 1:100 ±	1:50 + 1:100 ±	1:10 + 1:20 ±	1:10 +			1:10 negativ
3.	•1:20 +	1:20 +	1:10 +	1:10 +			1:10 negativ
4.	1:50 +	1:100 +	1:10 + 1:20 ±	1:20 +	1:50 +		1:10 negativ
5.	1:100 + 1:200 ±	1:50 + 1:100 ±	1:20 +	1:50 +	1:50 + 1:100 ±		1:10 negativ
6.	1:20 + 1:50 ±	1:20 +	1:10 —	1:10 ±	1:20 +	1:10 +	1:10 negativ
Kaninchen . 1.	1:100 +	1:100 +	1:10 —	1:50 +			1:10 negativ
2.	1:20 + 1:50 ±	1:20 + 1:50 ±	1:10 +	1:20 +	1:20 +	1:10 +	1:10 negativ
3.	1:100 + 1:200 ±	1:100 +	1:20 + 1:50 ±	1:20 + 1:50 ±	1:100 +	1:20 +	1:10 negativ
Meer- 1.	1:100 +	1:100 +	1:10 +	1:20 +	1:50 +		
schweinchen 2.	1:50 + 1:100 ±	1:50 +	1:20 +	1:20 +	1:50 +	1:20 +	1:10 negativ
3.	1:50 +	1:50 + 1:100 ±	1:10 +	1:20 + 1:50 ±	1:20 + 1:50 ±	1:10 + 1:20 ±	1:10 negativ
Taube	1:50 +	1:50 +	1:10 —	1:20 +	1:20 +	1:10 +	

von Widal erfahren hat, daß die Agglutination von Typhusbazillen in der Verdünnung 1:10 eines Krankenserums das Bestehen eines Typhus bei dem betreffenden Kranken sicher bewiese. Es erschien mir deshalb ratsam, zunächst einmal an einer größeren Anzahl normaler tierischer und normaler, sowie auch von verschiedenen Kranken stammender menschlicher Sera ihre Wirksamkeit gegenüber den Erregern des Maltafiebers festzustellen. Die Ergebnisse dieser Versuche sind nicht nur in wissenschaftlicher Hinsicht interessant, sondern scheinen mir auch sehr wichtig für die Praxis zu sein. Die Agglutination habe ich in der üblichen Weise ausgeführt. In je 1 ccm mit Kochsalzlösung hergestellter fallender Serumverdünnungen wurde 1 Öse 2- oder 3 tägiger Kultur verrieben. Die Röhrchen wurden bei Bruttemperatur (35° C) aufbewahrt. Die Beobachtung geschah nach 24 Stunden makroskopisch. Tabelle II gibt die Agglutinationsresultate wieder, welche ich mit verschiedenen normalen tierischen Seris gegenüber meinen Maltafieberstämmen erhielt. Der Kürze wegen notiere ich nur die Grenztiter, bei welchen die Reaktion noch positiv ausfiel.

Aus der Tabelle II geht hervor, daß normale Sera von Affen, Pferden, Rindern, Eseln, Schweinen, Hammeln, Ziegen, Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben die Maltafieberbakterien z. T. noch in recht erheblichen Verdünnungen 1:100, ja 1:200 agglutinieren können. Die Stärke der Agglutination ist aber bei den verschiedenen Bakterienstämmen verschieden stark, anderseits schwankt sie aber auch bei den Seris verschiedener Individuen desselben Tierstammes nicht unerheblich. Im allgemeinen werden der Wright- und der Nicollesche Stamm am stärksten agglutiniert. Etwas schwächer ist die Agglutinabilität bei dem Kràlschen Stamme; die beiden Bitterschen Stämme und der Charitéstamm agglutinieren sehr schwach, in manchen Seris zeigen sie sogar in der starken Konzentration 1:10 überhaupt keine Agglutination. Unter den Seris weisen die von Ziegen und Kaninchen die höchsten Agglutinationswerte auf, bis 1:200, Werte bis zu 1:100 finden wir auch noch bei den Seris von Meerschweinchen, Hammeln und einem Esel; bis 1:50 agglutinierten die Sera eines Affen, eines Pferdes, eines Schweines und einer Taube, während das Serum eines Rindes nur den leicht agglutinablen Stamm Nicolle noch in der Verdünnung 1:20, den Stamm Wright bei 1:10, die übrigen aber überhaupt nicht agglutinierte. Meine Resultate sind sonach etwas verschieden von den Beobachtungen Dr. Konrichs, die er an den Seris verschiedener Haustiere gemacht hat. Nach seinen Feststellungen zeigte sich Agglutination der Maltafieberbakterien wohl in Hühnerserum in der Verdünnung 1:20 und in Pferdeserum bei 1:10, aber nicht in Ziegen-, Esel-, Rinder-, Schweine-, Kaninchen- und Rattenserum. Ob



diese Differenzen auf der verschiedenen Agglutinabilität der von ihm und mir benutzten Bakterienstämme oder dem verschiedenen Verhalten der geprüften Sera beruhen, muß ich dahingestellt sein lassen. Auf die entsprechenden Untersuchungen englischer und französischer Autoren komme ich noch zurück. Weiterhin habe ich 9 normale Sera von gesunden Menschen, 22 Sera von an verschiedenen, nicht infektiösen Krankheiten Leidenden, 8 syphilitische Sera, 9 Sera von Typhuskranken, 10 Sera von Tuberkulösen und 3 Sera von Scharlachkranken geprüft. Kein einziger der diese Sera liefernden Menschen hat je an Maltafieber gelitten.

Tabelle IIIa.

Versuch mit normalen menschlichen Seris.

Nr.	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Kràl	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum
1	1:100 + 1:200 ±		1:10 +	1:20 +		1:50 +	1:10 negativ
2	1:100 +	1:100 +	1:10 + 1:20 ±	1:50 +	1:50 + 1:100 ±	1:10 —	1:10 negativ
3	1:200 +	1:100 + 1:200 ±	1:50 +	1:50 + 1:100 ±	1:100 +	1:20 +	1:10 negativ
4		1:100 + 1:200 ±	1:10 —	1:20 + 1:50 ±		1:20 +	
5	1:50 +	1:100 +	1:10 +		1:50 +	1:10 —	1:10 negativ
6	1:100 +	1:100 +	1:10 ±	1:50 +	1:20 +	1:10 ±	1:10 negativ
7	1:100 +	1:100 +	1:10 —	1:50 +	1:100 +	1:10 +	1:10 negativ
8	1:50 +	1:50 +	1:10 —	1:20 + 1:50 ±	1:20 + 1:50 ±	1:10 —	1:10 negativ
9	1:200 +		1:20 +	1:100 +	1:100 +	1:10 +	1:10 neagtiv

Tabelle IIIb.

Versuch mit Seris, welche von an verschiedenen nichtinfektiösen Krankheiten Leidenden stammten.

	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Kràl	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum
1.	1:200 +	1:200 +	1:20 +	1:50 +			1:10 negativ
2.	1:50 +	1:50 + 1:100 ±		1:20 +	1:20 + 1:50 ±		
3.	1:100 +	1:100 +	1:10 —	1:20 + 1:50 ±	1:50 + 1:100 ±		1:10 negativ
4.	1:500 +	1:200 +	1:10 +	1:100 + 1:200 ±	1:100 + 1:200 ±		1:10 negativ

Tabelle IIIb.
(Fortsetzung.)

	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Kràl	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum
5.	1 : 200 + 1 : 500 ±	1 : 200 +	1 : 20 + 1 : 50 ±	1 : 50 +	1 : 100 +		Wright 1:10 ± Nicolle 1:10 ± Kràl 1:10 ± Bitter V 1:10 ±
6.	1 : 100 + 1 : 200 ±	1 : 100 + 1 : 200 ±	1 : 10 +	1 : 50 + 1 : 100 ±	1 : 100 +		1:10 negativ
7.	1 : 100 +	1 : 100 +	1 : 10 —	1 : 50 +	1 : 100 +		
8.	1 : 50 +		1 : 10 + 1 : 20 ±	1 : 50 +	1 : 50 +		
9.		1 : 100 +	1 : 10 ±		1 : 50 +		1:10 negativ Nicolle 1:10 ±
10.	1 : 20 + 1 : 50 ±	1 : 20 +	1 : 10 —	1 : 10 + 1 : 20 ±	1 : 10 + 1 : 20 ±		
11.	1 : 500 +	1 : 200 + 1 : 500 ±	1 : 50 +	1 : 100 + 1 : 200 ±	1 : 200 +		negativ Wright 1:10 ± Nicolle 1:10 ± Kràl 1:10 ±
12.	1 : 100 +	1 : 100 +	1 : 10 + 1 : 20 ±	1 : 20 + 1 : 50 ±	1 : 50 +		1:10 negativ
13.	1 : 50 +	1 : 50 +	1 : 10 —	1 : 20 +	1 : 20 + 1 : 50 ±		1:10 negativ
14.	1 : 100 +	1 : 100 +	1 : 10 +	1 : 50 +	1 : 20 + 1 : 50 ±		
15.	1 : 50 + 1 : 100 ±	1 : 100 +	1 : 10 —	1 : 50 +	1 : 20 + 1 : 50 ±		
16.	1 : 50 +	1 : 100 +	1 : 10 +	1 : 20 +	1 : 20 +		
17.		1 : 50 + 1 : 100 ±	1 : 10 —	1 : 50 +			
18.	1 : 50 +	1 : 50 +	1 : 10 —	1 : 20 +	1 : 20 +		
19.	1 : 50 +	1 : 50 + 1 : 100 ±	1 : 10 —	1 : 50 +	1 : 50 +		
20.	1 : 100 +	1 : 50 + 1 : 100 ±	1 : 10 +	1 : 20 +	1 : 50 +	1 : 10 +	1:10 negativ
21.	1 : 100 + 1 : 200 ±	1 : 100 + 1 : 200 ±	1 : 20 +	1 : 100 +	1 : 100 +	1 : 10 ±	negativ Wright 1:10 ± Nicolle 1:10 ±
22.		1 : 200 +	1 : 20 + 1 : 50 ±	1 : 50 + 1 : 100 ±		1 : 50 +	1:10 negativ

Tabelle IIIc.
Versuch mit syphilitischen Seris.

	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Kràl	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum
1.	1:50 +	1:50 +	1:10 + 1:20 ±	1:20 + 1:50 ±			
2.	1:50 + 1:100 ±	1:50 + 1:100 ±	1:10 —	1:10 + 1:20 ±	1:20 +		1:10 negativ
3.	1:100 +		1:10 —	1:50 +	1:20 + 1:50 ±		
4.	1:50 +		1:10 —	1:20 +	1:50 +		
5.	1:100 +	1:50 + 1:100 ±	1:10 +	1:20 +	1:50 + 1:100 ±		1:10 negativ
6.	1:200 + 1:500 ±	1:200 +	1:20 + 1:50 ±	1:100 +	1:100 +		
7.	1:50 + 1:100 ±	1:100 +	1:10 —	1:20 + 1:50 ±	1:50 +	1:20 +	Wright 1:10 ± sonst negativ
8.	1:50 +	1:100 +	1:10 +	1:20 +	1:50 +	1:10 +	1:10 negativ

Tabelle IIId.
Versuch mit von Tuberkulösen stammenden Seris.

	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Kràl	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum
1.	1:50 + 1:100 ±	1:50 + 1:100 ±	1:10 +	1:20 + 1:50 ±			
2.	1:50 +		1:10 —				
3.		1:100 + 1:200 ±		1:20 + 1:50 ±			
4.	1:50 +		1:10 —				
5.		1:200 +	1:50 +				
6.	1:100 + 1:200 ±		1:20 +	1:50 + 1:100 ±	1:100 +		
7.	1:50 +		1:10 —		1:20 + 1:50 ±		
8.		1:100 + 1:200 ±	1:10 + 1:20 ±				
9.		1:100 + 1:200 ±		1:50 +		1:20 + 1:50 ±	1:10 negativ
10.	1:100 +		1:10 —	1:10 + 1:20 ±	1:20 + 1:50 ±	1:10 —	1:10 negativ

Tabelle IIIe.

Versuch mit von Typhus- und Scharlachkranken stammenden Seris.

Typhus.

Nr.	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Král	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum	Agglutinationstiter gegen Typhusbazillen
1	1:100 + 1:200 ±	1:100 +	1:10 ±	1:20 + 1:50 ±	1:50 + 1:100 ±			1:80 +
2	1:100 +	1:100 +	1:10 +	1:10 + 1:20 ±	1:100 +			1:80 +
3	1:100 +	1:100 +	1:20 +	1:20 + 1:50 ±	1:50 +			
4	1:100 + 1:200 ±	1:100 + 1:200 ±	1:10 + 1:20 ±	1:50 + 1:100 ±	1:50 + 1:100 ±			
5	1:100 +	1:100 +	1:10 –	1:20 +	1:20 + 1:50 ±		1:10 negativ	1:80 +
6	1:100 + 1:200 ±	1:100 +	1:10 –	1:20 +	1:50 +		1:10 negativ	
7	1:50 +	1:50 +	1:10 –	1:10 +				1:200 +
8	1:20 + 1:50 ±	1:20 +	1:10 +	1:20 +	1:50 +	1:10 + 1:20 ±	1:10 negativ	1:200 +
9	1:100 +	1:50 + 1:100 ±	1:20 +	1:20 + 1:50 ±	1:50 +	1:20 + 1:50 ±	1:10 negativ	1:100 +

Scharlach.

Nr.	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Král	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum	Agglutinationstiter gegen Typhusbazillen
1	1:50 + 1:100 ±	1:50 +	1:10 +	1:20 +				
2	1:50 +	1:20 + 1:50 ±	1:20 +	1:20 +	1:20 + 1:50 +			
3	1:20 +	1:50 +	1:20 +	1:20 + 1:50 ±			negativ Bitter V 1:10 ± Nicolle 1:10 ±	

Aus den Tabellen IIIa bis IIIe ersieht man, daß frische Sera von Menschen, welche niemals an Maltafieber erkrankt waren, die Maltafieberbakterienstämme recht beträchtlich hoch agglutinieren können. Im allgemeinen konnte ich auch hier feststellen, daß die Agglutinabilität des Wrightschen und des Nicolleschen Stammes am stärksten, dagegen die des Stammes Bitter III und des Charitéstammes am schwächsten ist. Der Wrightsche und der Nicollesche Stamm werden von normalem Menschenserum noch bis zur Verdünnung 1:200 agglutiniert, der Králsche und der Stamm Bitter V bis 1:100 und der Stamm Bitter III, sowie der Charitéstamm bis 1:50. Die Sera der verschiedenen Kranken zeigten ganz ähnliche Resultate; bei einigen von ihnen ging der Agglutinations-

titer sogar noch bis 1:500. Ein Einfluß einer bestimmten Krankheit auf die Höhe des Agglutinationstiters der Sera gegenüber Maltafieberbakterien konnte nicht festgestellt werden, ebensowenig wie ein augenfälliger Unterschied zwischen normalen und Krankenseris zu erkennen ist. Auffallend stark tritt dagegen bei diesen Prüfungen der Unterschied der Agglutinabilität der untersuchten Maltafieberstämme in die Erscheinung, wie aus der Übersichtstabelle IV. hervorgeht.

Tabelle IV.

Stamm	Zahl der geprüften Sera	Zahl der Srea, welche positive Reaktion in Verdünnungen von 1:10 ab gezeigt haben	Zahl der Sera, welche negative Reaktion in Verdünnungen von 1:10 ab gezeigt haben	Niedrigster und höchster Titer, bei welchem positive Reaktion eintrat	Höhe des Titers, welche die meisten positiven Reaktionen zeigte und Anzahl derselben	
Wright .	53	53	0	1:20—1:500	1:100	20
Nicolle .	51	51	0	1:20—1:500	1:100	26
Bitter III	58	36	22	1:10—1:50	1:10	16
Bitter V .	54	54	0	1:10—1:200	1:50	25
Kràl . .	45	45	0	1:20—1:200	1:50	28
Charité .	18	14	4	1:10—1:50	1:10	6

Die Stämme Wright, Nicolle, Kràl und der Stamm Bitter V werden von sämtlichen geprüften menschlichen Seris in der Verdünnung 1:20 und höher agglutiniert. Gegenüber den Stämmen von Wright und Nicolle erreichten die meisten Sera den Titer 1:100, bei den Stämmen Kràl und Bitter V 1:50. Dagegen zeigten gegenüber dem Charitéstamm und dem Stamm Bitter III manche Sera selbst in der Verdünnung 1:10 keine Agglutination; bei den ersteren beträgt die Zahl der negativen Sera 4 von 18 Proben, bei letzterem unter 58 Fällen 22. Beide Stämme werden von den meisten der sie überhaupt agglutinierenden Sera nur bis zur Verdünnung 1:10 beeinflußt. Es bestehen also zwischen den leicht agglutinablen Stämmen Wright, Nicolle, Kràl und Bitter V und den schwer agglutinablen Bitter III und Charité ganz erhebliche Unterschiede in ihrem agglutinatorischen Verhalten gegenüber normalen und nichtspezifischen Kranken-Seris von Menschen.

Diese Resultate stimmen im großen und ganzen mit den von Dr. Konrich gefundenen überein. Er hat bei seinen Versuchen 7 Bakterienstämme von Wright und Nicolle gebraucht und bei allen Agglutination im Menschenserum (hauptsächlich von Tuberkulösen stammend) beobachtet. Der Agglutinationstiter der Sera schwankte nach ihm zwischen 1:20 und 1:500.



Kürzlich haben nun auch Nègre und Raynaud bei der Untersuchung von 39 Seris, welche von gesunden Menschen oder von Kranken (Typhus und fieberhafte Krankheiten) stammten, in 8 Fällen positive Agglutination in der Verdünnung 1:100 und in 14 Fällen bei 1:50 beobachtet, während 22 andere Sera keine Reaktion gaben. Bei 50 Prozent der untersuchten Menschensera haben sie also positive Agglutination konstatiert. Nach Basset-Smith, Zammit und anderen englischen Mitgliedern der Maltafieberkommission dagegen, sowie mehreren französischen (Nicolle, Brault usw.) und italienischen Autoren (Stefanelli, Spagnolio usw.) zeigen die Bakterien in stärkerer Verdünnung als 1:10 bis 1:20 keine Agglutination in gesundem oder in von andersartigen Kranken entnommenem Menschenserum. Diese Autoren (Basset-Smith, Birt, Forster usw.) diagnostizieren deshalb bei Menschen, deren Serum in der Verdünnung von 1:30 gegen Maltakokken positive Agglutinationsreaktion zeigt, Maltafieber oder überstandenes Maltafieber. Dies ist nach unseren an sicher niemals maltafieberkrank gewesenen Menschen gewonnenen Resultaten nicht gerechtfertigt und muß notwendig zu den schwersten Irrtümern führen.

Die englischen Autoren Basset-Smith, Birt und Lamb usw. haben sich zur Anstellung der Agglutination der nach Wright abgetöteten Bakterienemulsion bedient (Erhitzen der Emulsion auf 55° C — eine Stunde lang — und Zusatz von 0·5 Prozent Karbolsäure). Um zu prüfen, ob die Verschiedenheit der Resultate vielleicht hierin ihre Erklärung finde, habe ich auch zur Kontrolle in vielen Fällen mit der vorschriftsmäßig behandelten Emulsion abgetöteter Bakterien Agglutinationsversuche angestellt. Aber die Resultate waren stets dieselben, wie bei den mit lebenden Bakterien ausgeführten Versuchen, wie übrigens auch bereits Wright und Semple angegeben haben. Die einzigen unwesentlichen Unterschiede waren, daß die Zusammenballung der abgetöteten Bakterien viel feinkörniger war und die Reaktion langsamer eintrat.

Ich muß also aus meinen Untersuchungsergebnissen mit Sicherheit folgern, daß frische tierische und menschliche Sera gegen die Maltafieberbakterien normale Agglutinine besitzen, welche je nach dem Falle und den zur Untersuchung benutzten Bakterienstämmen verschieden starke Wirkungen hervorrufen. Auffallend ist, daß der Agglutinationstiter mancher Stämme in normalem Serum eine Höhe erreichen kann, wie man sie bei andern Bakterien nur selten findet.

Was die Sera der Typhuskranken anbelangt, so muß ich auf Grund meiner Untersuchungen (vgl. Tabelle IIIe) sagen, daß sie im Gegensatz zu den von Wright und Smith mitgeteilten Resultaten auch eine bisweilen gar nicht geringe agglutinierende Kraft gegen Maltafieberbakterien



besitzen. Gegen einige Maltafieberstämme wirken sie sogar kräftiger als gegen Typhusbazillen. Auch Nègre und Raynaud erzielten positive Reaktion bei der Mehrzahl der Typhuskranken (unter 18 Fällen 11 positive Sera). Mit einiger Skepsis sind daher die Angaben einiger Autoren aufzunehmen, die auf Grund des Ausfalles der Agglutinationsreaktion mit dem Krankenserum eine Mischinfektion mit Typhus und Maltafieber nachgewiesen haben wollen. So hat z. B. Dreyer eine Mischinfektion mit Typhus und Maltafieber bei einem Kranken in Kairo lediglich auf Grund des Agglutinationsresultats diagnostiziert; und auch Rouslacroix sprach in einem gleichen Falle in Frankreich die Meinung aus, daß entweder eine Mischinfektion stattgefunden, oder daß der Kranke nacheinander an beiden Krankheiten gelitten hätte. Eine Kontrolle dieser Diagnose durch den Nachweis der Maltafiebererreger fehlt in beiden Fällen.

Ähnliche Differenzen wie zwischen den Angaben einiger englischer und französischer Autoren und meinen Befunden an menschlichen Seris ergeben sich auch bezüglich der Sera von normalen Tieren der verschiedensten Spezies, besonders von Ziegen, die bekanntlich in der Epidemiologie des Maltafiebers eine große Rolle spielen. Nach den Veröffentlichungen englischer und französischer Autoren wie Basset-Smith, Sergent, Edmond, Nicolle, Conseil usw. geben die Maltafieberbakterien in den Seris verschiedener Säugetiere, selbst in starken Serumkonzentrationen (1:10) keine Agglutination. Boycott und Damant haben indessen die Sera von 22 Ziegen untersucht, welche niemals außerhalb Englands gewesen waren, und bei sechs von ihnen einen Agglutinationstiter von 1:20 bis 1:200 gegenüber Maltafieberbakterien gefunden. Conor und Huon haben ebenfalls die Sera von 108 gesunden Ziegen in Marseille geprüft, von welchen 37 = 34·75 Prozent in Verdünnungen von 1:20 bis 1:100 agglutinierten. Trotzdem die genannten vier Autoren bei der Untersuchung der Organe (Milz) dieser Tiere keine Maltakokken feststellen konnten, haben sie doch lediglich auf Grund der Agglutinationsresultate den Verdacht ausgesprochen, daß die Ziegen an Maltafieber gelitten hätten. Eine sichere Feststellung dieser Krankheit bei Tieren, vor allem bei Ziegen, ist von großer Bedeutung, weil durch kranke Tiere — besonders durch Ziegenmilch — die Bakterien auf Menschen übertragen werden können. Basset-Smith und Zammit haben in Malta, Sergent und Edmond in Algerien, Ziegen, deren Sera in der Verdünnung 1:30 die Bakterien agglutinierten, als an Maltafieber Erkrankte oder als von dieser Krankheit Genesene bezeichnet. Auf gleiche Weise kam die englische Maltafieberkommission zu dem Schluß, daß auf Malta 50 Prozent aller Ziegen, 46 Prozent aller Pferde, 30 Prozent aller Rinder, 23 Prozent aller Katzen und 11 Prozent aller Hunde an Maltafieber entweder noch leiden oder

daran gelitten haben. Die allgemeine Richtigkeit solcher Schlüsse muß ich auf Grund meiner eigenen Bobachtungen an Tieren, die sicher niemals mit Maltafieberbakterien infiziert waren (vgl. Tabelle II), stark in Zweifel ziehen.

Ohne Zweifel ergeben sich aus der hohen Agglutinationskraft normaler Sera gegenüber Maltafieberbakterien mancherlei Schwierigkeiten für die Diagnose des Maltafiebers. Doch sind diese, wie wir noch sehen werden, nicht unüberwindbar. Bevor ich aber hierauf eingehe, muß ich zunächst noch über die mit spezifischen Immunseris erzielten Resultate berichten.

Agglutination mit Immunserum.

Bei den folgenden Versuchen habe ich Sera von durch Maltafieberbakterien immunisierten Kaninchen und Ziegen, sowie von einer Maltafieberkranken benutzt.

a) Kaninchenimmunserum. Das Immunserum gewann ich, indem ich von den aus der Tabelle V ersichtlichen fünf Bakterienstämmen, welche durch $^1/_2$stündiges Erwärmen auf 60° C abgetötet worden waren, je einem Kaninchen steigende Dosen intravenös injizierte. Als Anfangsdosis nahm ich eine halbe Öse und steigerte die Dosis in fünf Etappen bis zu einer ganzen Schrägagarkultur. Die von den Kaninchen gewonnenen Sera gaben folgende Agglutinationsresultate (s. Tabelle V).

b) Ziegenimmunserum. Ein Ziegenimmunserum, welches ich durch intravenöse Einspritzung des Stammes Bitter V gewonnen hatte, zeigte auch gegen alle Stämme der Maltafieberbakterien positive Reaktion, gegen den homologen Stamm bei 1:2000 — gegen die anderen Stämme bei 1:2000 bis 1:1000. (S. Tabelle VI.)

Die künstlichen Immunsera zeigten also einen mäßig hohen Agglutinationstiter. Wenn auch der homologe Bakterienstamm stets am stärksten agglutiniert wird, so machen sich doch größere Unterschiede in der Agglutinabilität der verschiedenen Stämme gegenüber ein und demselben Serum nicht bemerkbar.

In den Tabellen V und VI sind in der linken Kolumne die Agglutinationswerte der betreffenden Sera vor Beginn der Immunisierung, in der rechten Kolumne die Werte nach beendeter Immunisierung eingetragen. Vergleichen wir z. B. die beiden Spalten des Kaninchens I. Das normale Serum dieses Tieres hatte die fünf geprüften Stämme teils nur bis 1:20, teils aber bis 1:100 agglutiniert; nach der Immunisierung des Tieres mit dem Stamme Wright schwanken die Agglutinationswerte dieses Serums nur



Tabelle V.

	Kaninchenserum vor der Immunisierung					Sera derselben Kaninchen nach der Immunisierung (mit Stamm)				
	Kaninchen I	Kaninchen II	Kaninchen III	Kaninchen IV	Kaninchen V	Kaninchen I (Wright)	Kaninchen II (Nicolle)	Kaninchen III (Bitter III)	Kaninchen IV (Bitter V)	Kaninchen V (Kràl)
Wright . . .	1:100 +	1:100 +	1:50 + 1:100 ±	1:200 +	1:100 +	1 : 2000 +	1 : 1000 +	1 : 2000 +	1 : 3000 +	1 : 1000 +
Nicolle . . .	1:100 +	1:50 + 1:100 ±	1:100 +	1:100 + 1:200 ±	1:50 + 1:100 ±	1 : 2000 +	1 : 1000 +	1 : 2000 +	1 : 3000 +	1 : 1000 +
Bitter III . .	1:20 +	1:10 +	1:10 —	1:20 +	1:10 +	1 : 1000 +	1 : 500 + 1 : 1000 ±	1 : 2000 +	1 : 2000 +	1 : 1000 +
Bitter V . . .	1:20 +	1:50 +	1:20 + 1:50 ±	1:50 +	1:20 + 1:50 ±	1 : 1000 + 1 : 2000 ±	1 : 500 + 1 : 1000 +	1 : 2000 +	1 : 3000 + 1 : 5000 ±	1 : 1000 +
Kràl	1:50 +	1:50 + 1:100 ±	1:100 +	1:100 +	1:50 +	1 : 2000 +	1 : 1000 +	1 : 2000 +	1 : 3000 +	1 : 1000 +
Charité . . .						1 : 1000 + 1 : 2000 ±	1 : 1000 +	1 : 1000 + 1 : 2000 ±	1 : 3000 +	1 : 500 + 1 : 1000 ±

Die Agglutinationstiter der Kaninchen-Immunsera wurden durch $^1/_2$stündige Erwärmung der Sera auf 55° C in keiner Weise verändert.

Tabelle VI. Versuch mit Ziegenserum.

Stamm	Vor der Immunisierung 1:10	1:20	1:50	1:100	1:200	1:500	Nach der Immunisierung 1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	Kontrolle
Wright	+	+	+	±	—	—	+	+	+	+	+	±	—	—
Nicolle	+	+	+	±	—	—	+	+	+	+	+	±	—	—
Bitter III	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—
Bitter V	+	+	±	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—
Kràl	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—
Charité	+	±	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—

Nach $^1/_2$ stündiger Erwärmung auf 55° C ergab das **Immunserum** genau das gleiche Agglutinationsresultat wie vor der Erwärmung.

Tabelle VII. Versuch mit dem Serum einer Maltafieberkranken.

Stamm	Am 25. VI. entnommenes Blutserum 1:20	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	Am 29. VI. entnommenes Blutserum 1:20	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	Kontrolle
Wright	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	—
Nicolle	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	±	—	—
Bitter III	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—
Bitter V	+	+	+	+	+	±	—	+	+	+	+	+	±	—	—
Kràl	+	+	+	+	+	±	—	+	+	+	+	+	±	—	—
Charité	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	—

Nach $^1/_2$ stündiger Erwärmung auf 55° C gaben beide Sera die gleichen Agglutinationsresultate wie vor der Erwärmung.

noch zwischen 1:1000 und 1:2000. Ganz gleiche Unterschiede finden wir bei den Seris der andern vier Kaninchen vor und nach der Immunisierung. Die größere Gleichmäßigkeit im Agglutinationsvermögen gegenüber den verschiedenen Maltafieberstämmen stellte sich während der Immunisierung der Tiere allmählich ein, indem die gegenüber Normalserum schwer agglutinablen Stämme ihre Agglutinabilität gegenüber dem Serum des geimpften Kaninchens schneller steigerten als die für Normalserum leicht agglutinablen Stämme.

c) Serum einer Maltafieberkranken. Ganz die gleichen Unterschiede in ihrem Verhalten gegenüber den verschiedenen Maltafieberstämmen finden wir auch zwischen den normalen Menschenseris in Tabelle IIIa und dem Serum von der eingangs erwähnten Maltafieberpatientin (s. Tabelle VII). Wir hatten Gelegenheit, zwei ihr zu verschiedenen Zeiten entnommene Blutproben zu untersuchen, bei beiden Proben schwankte der Agglunitationstiter gegenüber allen sechs Stämmen nur zwischen 1:500 und 1:1000, während normale Sera Schwankungen zwischen 1:10 und 1:50 bzw. 1:50 und 1:200 ergeben hatten.

Wir können also aus diesen Untersuchungen den Schluß ziehen, daß verschiedene Stämme von Maltafieberbakterien gegenüber den Agglutininen der Normalsera sehr verschieden empfindlich sind, dagegen von den spezifischen Agglutininen homologer Immunsera recht gleichmäßig beeinflußt werden.

Ein weiterer Unterschied zwischen den Agglutininen der normalen und denen der Immunsera besteht darin, daß die Agglutinine der normalen Sera durch ½stündige Erwärmung auf 55° C unwirksam werden, während der Agglutinationswert der Immunsera durch eine derartige Behandlung in keiner Weise verändert wird. Schon Bordet hat angegeben, daß das Kaninchen-Normalagglutinin gegen Typhusbazillen bereits bei 55° C unwirksam wird, während das Immunagglutinin eine Temperatur von 58° bis 60° C ohne jede Schädigung verträgt. Ich habe, seinem Vorgange folgend, sowohl tierische und menschliche normale Sera, als auch Sera von verschiedenen Kranken, nachdem ich sie ½ Stunde lang auf 55° C erwärmt hatte, auf lebende und auch auf abgetötete Maltafieberbakterien wirken lassen. Wie in den Tabellen IIIa bis IIIe vermerkt ist, sind die Versuche mit erwärmten normalen Seris fast gänzlich negativ ausgefallen, nur in der Verdünnung 1:10 zeigte sich bei manchen Seris eine ganz schwache positive Reaktion, ein Resultat, das mit den Ergebnissen übereinstimmt, die Nègre und Raynaud kürzlich bei der Untersuchung normaler menschlicher Sera erzielten. Im Gegensatz hierzu sind (vgl. Tabelle V bis VII) die Agglutinationstiter der Immunsera durch diese



Behandlung in keiner Weise verändert worden. Dieses Resultat stimmt mit der Angabe von Basset-Smith überein, daß das Agglutinin des Maltafieberkrankenserums eine Erwärmung bis 60° C verträgt; ebenso hat Stefanelli festgestellt, daß die agglutinierenden Eigenschaften des Maltafieberkrankenserums durch 1stündiges Erwärmen auf 50° bis 60° C nicht unwirksam werden. Wir besitzen demnach in dem verschiedenen Verhalten normalen und spezifischen Serums gegenüber verschiedenen Maltabakterienstämmen einerseits und gegenüber einem einzigen Stamm vor und nach $^1/_2$stündiger Erwärmung auf 55° C andererseits ein zuverlässiges und leicht festzustellendes Unterscheidungsmerkmal zwischen den beiden Serumarten. Diese Tatsache ist für die Diagnose des Maltafiebers mittels der Agglutinationsreaktion des Krankenserums von größter Bedeutung. Besonders die Verwendung von $^1/_2$ Stunde auf 55° C erwärmtem Serum für die Anstellung der diagnostischen Agglutinationsreaktion dürfte sich zur Differentialdiagnose zwischen fieberhaften Krankheiten (vor allem Typhus) und Maltafieber empfehlen, sowie auch zur Untersuchung der Sera von Tieren. Denn bei diesen letzteren sollen sich außer allgemeiner Hinfälligkeit fast keine Krankheitssymptome zeigen; außerdem gelingt es — besonders bei Ziegen — auch nur selten, Maltafieberbakterien in den Organen nachzuweisen; nach Angabe der englischen Maltafieberkommission ist dieser Nachweis bei 13 Fällen nur einmal in der Milz und nach Zammit gar bei 46 Fällen nur einmal gelungen. In der Milz verstorbener Menschen dagegen gelingt es stets und aus dem Blute der Patienten nach Shaw bei 68 Prozent die Bakterien nachzuweisen. Auch bei der von mir untersuchten Maltafieberkranken der Charité gelang es mir leicht, die Krankheitserreger aus dem peripheren Blute zu züchten (vgl. die kurze Beschreibung des Falles am Ende der Arbeit).

Mit dem Stamm Bitter V und dem Nicolleschen Stamm habe ich dann noch dreimal hintereinander Tierpassagen an Mäusen vorgenommen, um festzustellen, ob die Agglutinabilität der Bakterien hierdurch in irgend einer Weise geändert wird. Aber ich konnte keine Veränderung der Agglutinabilität beobachten. Ferner zeigte auch der schwer agglutinable Stamm Bitter III, trotzdem ich ihn während mehrerer Monate regelmäßig in Zwischenräumen von ca. einer Woche weiter überimpfte, stets unverändert dasselbe Verhalten.

B. Komplementhemmende Wirkung.

Sicre hat bei Anwendung der Komplementbindungsmethode nach Bordet und Gengou eine hemmende Wirkung des Serums auf die Bakterienemulsion beobachtet. Auch ich habe meine Stämme und Immunsera mit dieser Methode geprüft. Als Antigen benutzte ich einen



wässerigen Bakterienextrakt. Zur Herstellung desselben verwandte ich eine dreitägige Traubenzucker-Agarkultur in Kollescher Schale, die ich mit 5 ccm sterilisierten destillierten Wassers aufschwemmte. Die Aufschwemmung schüttelte ich 48 Stunden lang bei Zimmertemperatur im Schüttelapparate und zentrifugierte sie alsdann. Die Resultate meiner Versuche sind folgende (sämtliche Kontrollen fielen einwandsfrei aus):

Tabelle VIIIa.
Versuch mit Kaninchenimmunserum (Wright-Stamm.)

Serum Wright	Extrakt Wright	Extrakt Nicolle	Extrakt Bitter III	Extrakt Bitter V	Extrakt Kràl	Extrakt Charité
0·1	H	H	H	H	H	H
0·05	H	H	H	H	H	H
0·02	H	H	H	H	H	H
0·01	H	S. H.	S. H.	H	S. H.	H
0·005	S. H.	G. K.	G. K.	G. K.	G. K.	G. K.
0·002	G. K.	K. K.	K. K.	K. K.	K. K.	F. K. L.
0·001	F. K. L.	K. L.	K. L.	F. K. L.	K. L.	F. K. L.
0·0005	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.
0·0002	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.
normales Kaninchen-serum 0·1	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.

Tabelle VIIIb.
Versuch mit Kaninchenimmunserum (Bitter V-Stamm.)

Serum Bitter V	Extrakt Wright	Extrakt Nicolle	Extrakt Bitter III	Extrakt Bitter V	Extrakt Kràl	Extrakt Charité
0·1	H	H	H	H	H	H
0·05	H	H	H	H	H	H
0·02	H	H	H	H	H	H
0·01	H	H	H	H	H	H
0·005	H	S. H.	S. H.	H	S. H.	S. H.
0·002	G. K.	G. K.	G. K.	S. H.	G. K.	G. K.
0·001	K. K.	F. K. L.	K. K.	G. K.	K. K.	K. K.
0·0005	F. K. L.	F. K L.	K. L.	F. K. L.	F. K. L.	F. K. L.
0·0002	K. L.	K. L.	K. L.	F. K. L.	K. L.	K. L.
0·0001	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.

H = Komplette Hemmung.
S. H. = Starke Hemmung.
G. K. = Hemmung mit großer Kuppe.
K. K. = Hemmung mit kleiner Kuppe.
F. K. L. = Fast komplette Lösung.
K. L. = Komplette Lösung.



Tabelle VIIIc.
Versuch mit Serum von einer an Maltafieber Erkrankten.
(Am 29. Juni entnommen.)

	Extrakt Wright	Extrakt Nicolle	Extrakt Bitter III	Extrakt Bitter V	Extrakt Kràl	Extrakt Charité
0·1	H	H	H	H	H	H
0·05	H	H	H	H	H	H
0·02	H	S. H.	H	H	S. H.	H
0·01	G. K.	G. K.	G. K.	S. H.	G. K.	S. H.
0·005	K. K.	K. K.	F. K. L.	G. K.	K. K.	G. K.
0·002	F. K. L.	K. L.	F. K. L.	K. K.	K. L.	F. K. L.
0·001	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	F. K. L.
0·0005	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.
0·0002	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.
normales Menschen-serum 0·1	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.

Mit einem wässerigen Extrakt der Bakterien kann man also, wie aus obigen Tabellen hervorgeht, eine komplementbindende Substanz in den mit Bakterien vorbehandelten tierischen Seris, sowie im Krankenserum feststellen. Der Titer der Sera im Komplementbindungsversuch ist unabhängig von der Höhe ihres Agglutinationswertes, wie ein Vergleich der Tabellen VIIIa bis VIIIc mit den Tabellen V und VII lehrt.

Opsonisches Verhalten eines Krankenserums.

Mit dem Blutserum der Kranken und mir selbst entnommenen Blutzellen habe ich auch eine Opsoninbestimmung gegen Maltafieberbakterien ausgeführt, indem ich gleichzeitig als Kontrolle mein eigenes Serum prüfte. Der opsonische Index der Kranken war $\frac{2\cdot44}{1\cdot57} = 1\cdot55$, es war also die phagozytische Kraft im Krankenserum größer als im gesunden.

Krankengeschichte.

Zum Schluß will ich noch eine kurze Mitteilung über die mehrfach erwähnte Maltafieberkranke machen. Eine ausführliche Veröffentlichung über den Fall wird von anderer Seite erfolgen.

Die Kranke, ein 16 Jahre altes Mädchen P. E. aus Kairo, gab an, viel rohe Ziegenmilch getrunken zu haben. Die Krankheit begann am 29. April d. J. mit einer 8tägigen Verstopfung. Im deutschen Hospital in Kairo wurde sie unter der Diagnose „Gastrisches Fieber“ behandelt.



Gleich bei Beginn der Erkrankung stellten sich hohes Fieber (40° C und darüber), Schmerzen in der Leber-, Magen- und Milzgegend, Kopfschmerz und Schweiß ein. Später reiste die Patientin auf ärztlichen Rat nach Deutschland und suchte die Berliner Charité auf. Am 19. Juni d. J. wurde sie hier aufgenommen. Die Patientin sieht anämisch aus, aber ihr Ernährungszustand ist gut. Sie neigt zu Verstopfung. Seit der Aufnahme dauert das Fieber an und schwankt zwischen 39·5° und 37·5° C. Die Milz ist deutlich vergrößert. Patientin hat Schmerzen in der Leber- und Milzgegend. Außerdem klagt sie über Mattigkeit, Kopfschmerz, Schweiß, rheumatische Schmerzen im Ellenbogen, in der Hüfte und im Knie; das rechte Knie war einmal vorübergehend geschwollen.

Am 25. Juni (Fieber 39·2° C) und am 29. Juni (Fieber 39° C) entnommenes Blutserum agglutinierte die Maltafieberbakterien in der Verdünnung 1:500 bis 1:1000 (s. Tabelle VII); Typhus-, Paratyphus A und B-Bazillen hingegen wurden durch beide Sera selbst in der Verdünnung 1:10 nicht beeinflußt. Das am 29. Juni entnommene Blut habe ich auf gewöhnlichem und Traubenzucker-Chapoteaut-Agar ausgestrichen. Auf letzterem wuchsen am 3. Tage (nach 60 Stunden) bei Bruttemperatur äußerst kleine Kolonien und am 4. Tage (nach 80 Stunden) besonders in der Nähe des Kondenswassers zahlreiche, mit der Lupe deutlich sichtbare Kolonien, während auf gewöhnlichem Agar in derselben Zeit nur eine geringe Anzahl von kleinen Kolonien dicht oberhalb des Kondenswassers wuchs. Auch aus Blut, das ich am 18. Juli (Fieber 38° C) während eines Rezidivs der Patientin entnahm, habe ich ebenfalls auf Traubenzucker-Chapoteaut-Agar die Bakterien nach 5 Tagen in Kultur erhalten.

Zusammenfassung.

1. Die Erreger des Maltafiebers sind Bakterien von kurzer Stäbchenform. Ihre Bezeichnung als Bacterium miletense ist daher derjenigen als Micrococcus melitensis vorzuziehen.

2. Die Bazillen wachsen auf traubenzuckerhaltigen, schwach alkalischen Nährböden am besten.

3. Sie besitzen gegen Nagetiere eine gewisse Pathogenität, und zwar nimmt die Erkrankung den Verlauf einer akuten Sepsis.

4. In gesunden tierischen und menschlichen Seris, sowie in Seris, die von verschiedenen Kranken stammen, — also durch Normalagglutinine — werden die Maltafieberbakterien agglutiniert; jedoch zeigen sie gegen Normalagglutinine je nach dem Stamm und der individuellen Beschaffenheit des Serums verschiedene Agglutinabilität.



5. In Kaninchen- und Ziegenimmunseris und in Serum von Maltafieberkranken wurden dagegen die von mir untersuchten Bakterienstämme des Maltafiebers fast gleichmäßig agglutiniert. Die Immunsera können einen hohen Agglutinationstiter erreichen.

6. Die Agglutinine im Normalserum werden durch $^1/_2$stündiges Erhitzen auf 55° C unwirksam, dagegen werden die Immunagglutinine durch diese Behandlung des Serums nicht verändert. Es empfiehlt sich daher zur diagnostischen Untersuchung eines Krankenserums das Serum vor Anstellung der Agglutination $^1/_2$ Stunde lang auf 55° C zu erwärmen.

7. Mit einem wässerigen Extrakt von Maltafieberbakterien kann man mittels der Komplementbindungsmethode das Vorhandensein einer spezifischen komplementbindenden Substanz im Serum feststellen.

8. Der opsonische Index für Maltafieberbakterien war im Serum der von mir untersuchten Maltafieberkranken erhöht.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Lentz für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für seine freundliche Förderung derselben meinen verbindlichsten Dank zu sagen.



Literatur-Verzeichnis.

Bruce, *Practitioner.* 1887.

Derselbe, *Brit. med. Journal.* 1889.

Derselbe, *Ebenda.* 1893.

Derselbe, *Journ. of Royal Army med. Corps.* 1907.

Reports of the Commission appointed by the Admiralty, the war office, and the Civil Government of Malta, for the investigation of Mediterranean Fever under the supervision of an Advisory Committee of the Royal Society. London 1905—1907. Vol. I—VII.

Eyre, *Proceeding of the Royal Society of Edinburgh.* 1909. XXIX.

Durham, *Hygien. Rundschau.* 1898.

Derselbe, *Journal of Pathol. and Bacteriol.* 1898.

Eyre, *Handbuch für pathogene Mikroorganismen* von Kolle u. Wassermann. Erg.-Bd. I.

Babes, *Ebenda.* Bd. III.

Gottschlich, *Ebenda.* 2. Aufl. Bd. I.

Eyre, *Lancet.* 1908.

Hughes, *Mediterranean, Malta or undulant Fever.* London 1897.

Derselbe, *Lancet* 1892.

Wright and Smith, *Ebenda.* 1897.

Wright and Semple, *Brit. med. Journal.* 1892.

Dieselben, *Ebenda.* 1897.

Dieselben, *Lancet.* 1897.

Basset-Smith, *Handbuch für Tropenkrankheiten* von Mense.

Dieselben, *Journ. Trop. med.* 1902.

Dieselben, *Ebenda.* 1907/08.

Hayat, *Annales de l'Institut Pasteur.* Tunis 1907.

Boycott and Damant, *Brit. med. Journal.* 1908.

Conor et Huon, *Compt. rend. Soc. de Biol.* 1909.

Nicolle, *Ebenda.* 1904.

Nicolle et Conseil, *Bull. de la Soc. d. pathol. exot.* 1909.

Spangnolio, *Reforma medica.* Vol. XXVII. No. 48.

Konrich, *Diese Zeitschrift.* Bd. XLVI.

Schilling, *Tropenhygiene.* 1909.

Scheube, *Handbuch für Tropenhygiene.* 1910.



Stefanelli, *Revista Critica di clinica Medica.* Jahrg. VIII. — Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1908. Bd. XLI.

Nicolle et Hayat, *Compt. rend. Soc. Biol.* 1905.

Sergent, Edmond et Bories, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1908.

Birt and Lamb, *Lancet.* 1899.

Birt, *Ebenda.* 1907.

Forster, *Ebenda.* 1906.

Nègre et Raynaud, *Compt. rend. Soc. Biol.* 1911. T. LXX.

Rouslacroix, *Ebenda.* 1911. T. LXX.

Dreyer, *Münchener med. Wochenschrift.* 1906.

Sammelberichte über Maltafieber. — Centralblatt f. Bakteriologie. Ref. 1908/10. — *Archiv für Schiff- und Tropenhygiene.* Ref. 1900—1911.

Sicre, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1908.

Zammit, *Brit. med. Journ.* 1900.

Horrocks, Kennedy, Zammit, Shaw u. a., *Journ. of the Royal Army med. Corps.* 1906.

Aubert, Cantaloube, Thèbault, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1910.

Brault, *Arch. gén. de Méd.* 1904.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. II.)

Sämtliche Abbildungen sind in der Vergrößerung 1 : 1000 von Hrn. Prof. Zettnow aufgenommen worden.

Fig. 1. Maltafieberbakterien nach Zettnow versilbert; nur Stäbchenformen erkennbar.

Fig. 2. Staphylokokken nach Zettnow versilbert; nur Kugelformen erkennbar.

Fig. 3. Maltafieberbakterien von trockenem Agar, oberer Teil einer Schrägagarkultur, mit Fuchsin gefärbt.

Fig. 4. Maltafieberbakterien von feuchtem Agar, von derselben Kultur wie Fig. 3, jedoch dicht oberhalb des Kondenswassers entnommen, mit Fuchsin gefärbt.



[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
(Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Lentz.)

Beiträge zur Typhusschutzimpfung.

Von

Dr. **Michael Wassermann,**
Assistenten am Institut.

Alle in der neuesten Zeit erzielten Fortschritte in der spezifischen Behandlung von Infektionskrankheiten gehen von der fundamentalen Entdeckung der Tuberkulinwirkung bei Tuberkulose durch Robert Koch aus. Es war hier zum erstenmal die Möglichkeit einer spezifischen Beeinflussung eines Krankheitsprozesses durch mehrfache Injektion von kleinen Mengen des — wenn auch in gewisser Weise veränderten — Infektionserregers klar bewiesen worden. Durch Pfeiffer, Kolle und Wassermann und ihre Mitarbeiter wurde dann der spezifischen Behandlung ein größeres Anwendungsgebiet gewonnen, indem sie zeigen konnten, daß Kaninchen und Meerschweinchen, denen öfters kleine Dosen von abgetöteten Typhusbazillen injiziert wurden, sich bei einer nachfolgenden Injektion einer sonst für Kaninchen bzw. Meerschweinchen tödlichen Dosis von Typhusbazillen als immun erwiesen. Durch weitere, besonders von Kolle und seinen Mitarbeitern, im Institut für Infektionskrankheiten ausgeführte Untersuchungen wurde diese Art der Schutzimpfung bei Typhus in eine Form gebracht, die es gestattete, sie als praktisch verwertbare Schutzimpfungsmethode gegen Typhus beim Menschen anzuwenden.

Kolle und seine Mitarbeiter verglichen damals verschieden hergestellte Impfstoffe, den Impfstoff nach Pfeiffer und Kolle, den von Wright



benutzten Bouillonimpfstoff, den Impfstoff nach Neisser-Shiga, sowie einen von A. Wassermann dargestellten getrockneten und gepulverten Impfstoff. Sie entschieden sich für den Impfstoff nach Pfeiffer und Kolle, dessen Herstellung einerseits am gleichmäßigsten und in großen Mengen am leichtesten durchführbar ist, und dessen Anwendung andererseits keine unerwünschten klinischen Erscheinungen im Gefolge hatte. Die Herstellung des Typhusimpfstoffes nach Pfeiffer und Kolle, die seither im Institut beibehalten wurde, wird von Hetsch und Kutscher[1] folgendermaßen beschrieben: Die Kulturmasse von zehn gut bewachsenen Agarröhrchen, deren Freisein von zufälligen Verunreinigungen jedesmal vor der Verwendung sorgfältig geprüft war, wurde mit je 4·5 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und nach Filtration durch ein steriles Gazefilter in ein Erlenmeyerkölbchen gebracht, welches somit 45 ccm Impfstoff = 100 Normalösen enthielt. Nachdem dieser Impfstoff durch $1^1/_2$—2stündiges Schütteln im 60°-Schrank abgetötet war, wurden von jedem Kölbchen Sterilitätskontrollen angelegt. Darauf wurde jedes Kölbchen Impfstoff zur weiteren Haltbarmachung mit 5 ccm einer frisch bereiteten 3prozentigen Phenollösung versetzt. Waren nach 24stündigem Verweilen im 37°-Brütschrank die Kontrollen steril geblieben, dann wurde der Impfstoff in kleineren Mengen abgefüllt, nochmals $^1/_2$ Stunde bei 60° gehalten und signiert. Der auf diese Weise hergestellte Impfstoff enthielt also in 1 ccm 2 Normalösen 24stündiger Typhusagarkultur.

Die praktische Erprobung der Schutzimpfung gegen Typhus wurde infolge der Kolleschen Arbeiten sowohl in Deutschland als namentlich in England vorgenommen. Wie sich aus dem Wesen der Sache ergibt, konnte die Beurteilung der Wirksamkeit erst nach längerer Zeit und nur auf Grund einer statistischen Zusammenstellung der Erfolge bei Geimpften, sowie der unter den gleichen Verhältnissen bei Nichtgeimpften auftretenden Erkrankungen bzw. Todesfälle an Typhus erfolgen. Auf deutscher Seite wurde die Schutzimpfung bei Angehörigen der nach Südwest-Afrika zur Bekämpfung des Hereroaufstandes entsandten Truppen vorgenommen. Trotzdem ausschließlich sich freiwillig Meldende der Impfung unterzogen wurden, erreichte die Zahl der Gesamtimpfungen ungefähr 8000.[2] Die Resultate sprechen entschieden zugunsten der Schutzimpfung. Wie aus der Statistik[3] hervorgeht, trafen auf 1000 Geimpfte 50·9 Erkrankungen mit 3·3 Todesfällen, auf 1000 Nichtgeimpfte 98·4 Erkrankungen mit 12·6 Todesfällen. In England wurde auf die energische Empfehlung und Propaganda

[1] *Klinisches Jahrbuch.* 1905. Bd. XIV.
[2] Steudel, *Verhandlungen des deutschen Kolonialkongresses.* 1905.
[3] *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens.* 1908. Hft. 37.

von Wright hin die Typhusimpfung bei einer sehr großen Zahl von Soldaten, die nach den ausgedehnten britischen Besitzungen, nach Malta, Ägypten und Indien entsandt waren, durchgeführt. Von der Kolleschen Schutzimpfung unterscheidet sich die nach Wright dadurch, daß ein Bouillonimpfstoff benutzt wird, den Wright durch 14tägiges Wachstum von Typhusbazillen in Bouillon gewonnen hatte, und der nach Zählung der in 1 ^{ccm} enthaltenen Keime und Abtötung bei 60° injiziert wird. Die Zahl der Injektionen betrug bei den englischen Truppen entgegen der Empfehlung Wrights, der drei Injektionen wünscht, meistens nur eine, hie und da zwei Injektionen. Kolle[1] hält für praktische Zwecke und bei der Impfung im großen Maßstabe zwei Injektionen für ausreichend, würde aber drei Injektionen ebenfalls den Vorzug geben, da sich die Steigerung der Dosen in diesem Falle allmählicher durchführen läßt und die klinischen Erscheinungen so geringer werden. Trotzdem nun also bei den englischen Truppen die Schutzimpfung durchaus nicht in idealer Weise durchgeführt wurde, so sind die Resultate doch recht günstige, wenigstens ist aus einer von William B. Leishman[2] mitgeteilten Zusammenstellung folgendes Ergebnis zu ersehen: Von 18483 Mann, die in Gibraltar, Malta, Südafrika, Ägypten und Indien standen, wurden 6815 geimpft, 11668 nicht geimpft. Von den Geimpften erkrankten 56 und starben 5 an Typhus, von den Nichtgeimpften erkrankten 272 und starben 46 an Typhus, d. h. bei Geimpften traten 5·39 Promille, bei Umgeimpften 30·4 Promille Erkrankungen auf, von denen die Geimpften 8·9 Prozent und die Ungeimpften 16·9 Prozent, also fast das Doppelte der Mortalität aufwiesen. Trotz dieser einleuchtenden Vorteile der Typhusschutzimpfung, die selbst, wenn man den kritischen Maßstab an die Statistik anlegt, immer noch sehr deutlich zugunsten der Typhusschutzimpfung sprechen, tauchen immer wieder Stimmen auf, die sich gegen den Wert der Typhusschutzimpfung richten. Der Gründe dafür sind mehrfache. In erster Linie ist wohl der anzuführen, daß der Erfolg der Schutzimpfung beim Menschen nicht sinnfällig demonstriert werden kann, da eine nachfolgende experimentelle Infektion ausgeschlossen und die Ansteckung mit Typhus mehr oder weniger von äußeren Umständen abhängt. Sodann ist die Schutzimpfung manchmal mit unangenehmen Störungen des Allgemeinbefindens und lokalen Beschwerden verbunden, und schließlich ist der Erfolg nicht in allen Fällen absolut sicher, so daß auch Geimpfte an Typhus erkranken.

Zudem ist man in den letzten Jahren bei wiederholter Injektion des gleichen artfremden Eiweißes, als welches der Typhusimpfstoff ja be-

[1] *Klin. Jahrbuch.* 1905. Bd. XIV.
[2] *Journal of the Royal Institute of Public Health.* Vol. XVIII. Nr. 9.



trachtet werden muß, auf die Gefahr der Anaphylaxie aufmerksam geworden. Ferner wurde durch englische Forscher darauf hingewiesen, daß die Temperatur, bei welcher der Impfstoff abgetötet wurde, für die wirksame Schutzimpfung nicht ohne Bedeutung sei. In Übereinstimmung mit Arbeiten von Friedberger und Moreschi[1] wies W. S. Harrison[2] noch darauf hin, daß ein bei 53° abgetöteter Typhusimpfstoff bei Kaninchen intensivere Bildung von Antikörpern (speziell Opsoninen) anregte, wie der bei 60° abgetötete. Nach der Anschauung von Harrison würde der antigene Komplex des Typhusimpfstoffes durch die Erhitzung auf 60° in gewisser Weise geschädigt.

Es erschien unter diesen Umständen erforderlich, die Frage der Typhusschutzimpfung unter Berücksichtigung der oben angeführten Gesichtspunkte von neuem experimentell zu bearbeiten.

Wie von vornherein gesagt werden muß, läßt sich die experimentelle Prüfung der Frage so, wie es wünschenswert wäre, nicht durchführen, da hierfür nur ausgedehnte Experimente an einer großen Zahl von Menschen, die nachher der Infektion mit Typhus ausgesetzt wären, in Betracht kämen, was ja natürlich ausgeschlossen ist. Es blieben demnach neben einigen Versuchen an sich freiwillig meldenden Kollegen nur Tierexperimente übrig. Die durch die früheren Arbeiten von Kolle und Pfeiffer ein für allemal festgestellte Tatsache, daß durch mehrfache Injektionen abgetöteter Typhusbazillen die Versuchstiere gegen die spätere Injektion einer tödlichen Dosis von Typhusbazillen immun werden, unterliegt weder einem Zweifel, noch war sie Gegenstand einer Nachprüfung. Es kam nur darauf an, festzustellen, ob bei der von Kolle als der besten empfohlenen Methode der Schutzimpfung die Gefahr der Anaphylaxie besteht. Außerdem wurden vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit eines bei 60° und 53° abgetöteten Typhusschutzimpfstoffes angestellt. Zu den Untersuchungen wurde der seit längerer Zeit im Institut für Infektionskrankheiten fortgezüchtete Typhusstamm „151" benutzt.

Die Anaphylaxie, die in den letzten Jahren in so außergewöhnlichem Maße im Mittelpunkt der gesamten serologischen Forschung steht, wird dadurch charakterisiert, daß ein Organismus, dem eine kleine Menge eines artfremden Eiweißes injiziert wurde, auf die nach einiger Zeit erfolgende Reinjektion einer kleinen Dosis des gleichen artfremden Eiweißes mit schweren Störungen des Allgemeinbefindens reagiert. Am besten studiert sind die Erscheinungen der Anaphylaxie beim Meerschweinchen, bei dem die subkutane Injektion einer ganz geringen Menge artfremden Eiweißes,

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1905. Bd. XXXIX.
[2] *Journal of the Royal Army Medical Corps.* Mai 1907.



z. B. $^1/_{1000}$ ccm Pferdeserums, einen derartigen Zustand der Überempfindlichkeit hervorruft, daß, wenn man demselben Tiere nach 14 bis 20 Tagen etwa $^1/_2$ ccm Pferdeserum — also eine Dosis, die von einem normalen Meerschweinchen reaktionslos vertragen wird, in die Vene injiziert, sofort schwere Kämpfe, tiefes Koma und der Tod unter Erscheinungen der Atemlähmung erfolgen. Nach den Kenntnissen, die man bis jetzt vom Wesen der Anaphylaxie hat, handelt es sich dabei um die Vereinigung von Antigen, Ambozeptor und Komplement, die in der Weise erfolgen, daß der im vorbehandelten Organismus gebildete Ambozeptor durch die Reinjektion von Antigen niedergeschlagen und so der verdauenden Wirkung des Komplements zugängig gemacht wird, wodurch starke Gifte, die als Eiweißspaltprodukte aufzufassen sind und von Fr. Keysser und M. Wassermann[1] als Toxopeptide bezeichnet wurden, entstehen.

Die Erzeugung dieses anaphylaktischen Zustandes durch Injektion von Serumeiweiß gelingt sehr leicht. Schwieriger ist es durch Injektion und Reinjektion von Bakterien Anaphylaxie auszulösen. Kraus und Doerr[2] konnten bei Pferden, Ziegen und Meerschweinchen durch geeignete Behandlung mit Bakterien bzw. Bakterienmazeration Anaphylaxie erzeugen. Bei Meerschweinchen wurde 1 Öse Typhusbazillen subkutan injiziert und nach 20 bis 25 Tagen 1 ccm einer mittels Sodalösung hergestellten Mazeration von Typhusbazillen reinjiziert. Die Tiere starben zum Teil unmittelbar danach, teilweise erholten sie sich. Die von Shiga mitgeteilten plötzlichen Todesfälle von Pferden bei der Immunisierung mit Dysenteriebazillen können ebenfalls auf Anaphylaxie beruhen, wären aber auch durch die Annahme einer Vergiftung durch Dysenterietoxin zu erklären. Es leuchtet ein, daß für die Frage der Bakterienanaphylaxie eben nur solche Bakterien gewählt werden dürfen, die für den Tierkörper an sich nicht giftig sind. Über die Disposition des Menschen zur Anaphylaxie ist in den letzten Jahren viel geschrieben worden. Es ist nicht zu verschweigen, daß hier sicherlich eine ganze Anzahl von Fällen mit zur Anaphylaxie gerechnet wurden, die nichts damit zu tun haben, wie z. B. Todesfälle nach wiederholter Injektionmit Diphtherieserum bei Diphtheriekranken, wobei die nachfolgenden Störungen, eventuell der letale Ausgang, eben der durch die Krankheit bedingten Intoxikation und nicht etwa der Seruminjektion zur Last gelegt werden müssen. Indessen bleibt unbestritten eine ganze Reihe von Fällen übrig, bei denen typische anaphylaktische Erscheinungen beobachtet wurden. Es soll hier von der, nach allgemeiner Anschauung auf Anaphylaxie beruhenden Tuberkulinreaktion, sowie der Pirquetschen

[1] *Folia serologica.* 1911. Vol. VII. Nr. 3.
[2] *Wiener klin. Wochenschrift.* 1908. Nr. 28.



Kutanreaktion abgesehen werden, und nur die Fälle in Betracht kommen, bei denen es sich um mehr oder weniger schwere Störungen der Gesundheit handelte. In erster Linie ist hierbei an Urticaria ähnliche Erscheinungen zu erinnern, welche bei gewissen Personen nach Berührung gewisser Körper (Satinholz usw.) oder nach Anwendung gewisser Arzneimittel (Antipyrin usw.) auftreten. Bei dieser Gruppe von anaphylaktischen Erscheinungen ist zu beachten, daß stets die Haut mehr oder weniger intensiv beteiligt war. Eine andere Gruppe von Anaphylaxie beim Menschen bildet der Fall des norwegischen Arztes De Besche[1], sowie mehrere Fälle, die Allard aus der medizinischen Klinik zu Greifswald mitteilte. Auch in diesem Falle handelte es sich neben schweren Störungen von seiten des Herzens um Mitbeteiligung der Haut, es traten Urticaria sowie starke Ödeme im Gesicht und an den Händen auf.

Doch ist zu betonen, daß bisher bei gesunden Menschen trotz aller bedrohlichen Erscheinungen ein Todesfall an Anaphylaxie noch nicht beschrieben ist, und daß in allen obigen Fällen keine bleibenden oder keine dauernden Gesundheitsstörungen zurückbleiben. Zieht man außerdem in Betracht, daß diese anaphylaktischen Erscheinungen durch die Injektionen relativ großer Mengen artfremden Serums bewirkt wurden, so wird die Wahrscheinlichkeit bei der Typhusschutzimpfung etwa einmal derartige Erscheinungen zu beobachten, nicht groß zu sein. Außerdem ist noch zu beachten, daß zur Auslösung anaphylaktischer Erscheinungen sogar bei dem empfindlichsten Tier, dem Meerschweinchen, die Reinjektion in die Blutbahn oder wenigstens subdural erfolgen muß, während die subkutane Reinjektion ohne Wirkung bleibt; bei der Bakterienanaphylaxie ist die intravenöse Reinjektion unbedingtes Erfordernis. Da nun der Mensch für die Anaphylaxie sicherlich weniger disponiert ist als die Meerschweinchen — gegenüber der ungeheuren Zahl von Seruminjektionen und Serumreinjektionen ist die Anzahl der mit anaphylaktischen Störungen verbundenen Fälle doch eine verschwindend geringe — und zudem die Typhusschutzimpfung stets nur subkutan erfolgt, wobei höchstens durch zufällige Verletzung einer kleinen Vene ein Teil der Dosis in die Blutbahn gelangen kann, so ist der Eintritt der Anaphylaxie nach wiederholter Einverleibung des Typhusschutzimpfstoffes beim Menschen schon aus theoretischen Erwägungen recht unwahrscheinlich.

Die bei der Injektion des Typhusschutzimpfstoffes manchmal zu beobachtenden klinischen Störungen, die weiter unten noch ausführlicher besprochen werden, sind nicht mit anaphylaktischen Erscheinungen zu verwechseln.

[1] E. Friedberger, *Münchener med. Wochenschrift.* 1910. Nr. 51.



Tierversuche zur Frage der Anaphylaxie.

Um die Möglichkeit der Anaphylaxieentstehung durch Vorbehandlung mit Typhusschutzimpfstoff zu studieren, wurde das zu anaphylaktischen Versuchen geeignetste Versuchstier, das Meerschweinchen, gewählt.

Bei den Versuchen wurde die gleiche Dosis Typhusimpfstoff gewählt, wie sie beim Menschen zur Anwendung gelangt, und zwar aus dem Grunde, weil nach Angabe der Autoren, die sich mit der Bakterienanaphylaxie beschäftigten (Rosenau und Anderson, Kraus und v. Stenitzer, Kraus und Doerr) erst bei relativ großen Dosen ein positiver Ausfall der Anaphylaxieversuche erzielt werden konnten. Wäre die Dosis auf das Gewicht des Meerschweinchen reduziert worden, so hätte man von vornherein mit dem Auftreten von Anaphylaxie gar nicht rechnen dürfen.

Datum	Anzahl der Meerschweinchen	Dosis des Impfstoffes	Art der Injektion	Ergebnis
2. V. 10.	50	0·3 ccm	subkutan	
		Davon weiterbehandelt:		
9. V. 10.	3	0·8 ccm	subkutan	munter, leben.
9. V. 10.	3	0·8 „	intravenös	
17. V. 10.	3	1 ccm	subkutan	munter, leben.
17. V. 10.	3	1 „	intravenös	
3. VI. 10.	3	1 ccm	subkutan	munter, leben.
3. VI. 10.	3	1 „	intravenös	
2. VIII. 10.	3	1 ccm	subkutan	munter, leben.
2. VIII. 10.	3	1 „	intravenös	
6. XII. 10.	3	1 ccm	subkutan	munter, leben.
6. XII. 10.	3	1 „	intravenös	

Wie aus dem Protokoll hervorgeht, zeigten sich bei keinem der Tiere Andeutung von Anaphylaxie.

Kaninchen, bei denen ebenfalls die für Menschen übliche Dosis subkutan injiziert worden war, zeigten bei Reinjektion in Intervallen von acht Tagen bis zu sieben Monaten keine Erscheinungen von Anaphylaxie. Wie aus diesen Versuchen sich klar ergibt, gelingt es also selbst bei dem für Anaphylaxie empfindlichsten Versuchstier durch mehrfache Injektionen von Typhusschutzimpfstoff, in den gleichen Dosen, wie sie beim Menschen verwandt werden, niemals Anaphylaxieerscheinungen auszulösen. Die Möglichkeit, daß etwa einmal beim Menschen anaphylaktische Störungen im Verlaufe der Typhusimmunisierung, selbst bei wiederholter Injektion

auch nach Monaten, aufträten, dürfte demnach wohl auszuschließen sein. In der Tat sind auch bisher bei der sehr großen Anzahl von Injektionen dieses Typhusimpfstoffes beim Menschen anaphylaktische Störungen noch nicht beobachtet worden.

Zu bemerken wäre noch, daß es Sobernheim[1] nicht gelang bei Milzbrand Anaphylaxie zu erzeugen. Von uns ausgeführte Untersuchungen zwecks Differenzierung der verschiedenen Typen der Dysenteriebazillen mittels Anaphylaxie, führten ebenfalls zu dem Ergebnis, daß die Auslösung eines typischen anaphylaktischen Shoks mit Bazillenvorbehandlung nicht gelingt.

Versuche am Menschen, zur Frage der Anaphylaxie.

Nachdem durch die Tierversuche die Möglichkeit der Anaphylaxie so gut wie ausgeschlossen war, konnte dazu übergegangen werden, auch beim Menschen die Wiederholung der Schutzimpfung nach längerer Zeit auszuführen. Es stellten sich zu diesem Zweck vier Assistenten des Instituts für Infektionskrankheiten zur Verfügung.

Um neben der Möglichkeit des Eintritts der Anaphylaxie zugleich die klinischen Erscheinungen bei der Injektion eines Impfstoffes zu studieren, der statt 1 Stunde bei 60°, 24 Stunden bei 53° abgetötet war, wurden sowohl die ersten Injektionen als die Injektion nach mehreren Monaten mit dem 53°igen Impfstoff angestellt. Da es aber bei den Injektionen zu unangenehmen klinischen Erscheinungen kam, so schieden von den vier Herren allmählich drei aus, so daß schließlich nur einer übrig blieb, bei dem die vollständige Behandlung mit drei Erstinjektionen und einer Reinjektion nach sechs Monaten durchgeführt werden konnte. Die Behandlung wurde in folgender Weise durchgeführt: Die erste Dose war 0·3 ^{ccm}, nach 7 Tagen 0·8 ^{ccm}, nach 14 Tagen 1 ^{ccm}. Die Injektion wurde subkutan an der linken und rechten Brust vorgenommen. Temperaturmessungen wurden in einem Falle vorgenommen, wo bedeutendere Gesundheitsstörungen auftraten; die Antikörperbestimmung beschränkte sich auf Bestimmung des Agglutinationstiters gegen den Stamm „151“, mit welchem der Typhusimpfstoff hergestellt war. Wenn natürlich auch der Agglutinationstiter kein direktes Maß für die Wirksamkeit oder Unwirksamkeit der Schutzimpfung darstellt, so können wir in ihm immerhin einen Gradmesser für die Intensität erblicken, mit welcher der Organismus auf die resorbierte Leibessubstanz der Typhusbazillen durch Bildung von Antikörpern reagiert. Welche Antikörper eigentlich für die Immuni-

[1] *Handbuch* von Kraus u. Levaditi, 1910. Ergänzungsband.

sierung entscheidend sind, steht ja beim Typhus überhaupt noch nicht fest. Es kommen hier neben den bakteriolytischen Ambozeptoren jedenfalls noch spezifische Opsonine und Tropine in Betracht. Da man nun für die Praxis auf die Bestimmung eines dieser Antikörper angewiesen ist, so ist es natürlich am bequemsten, den Agglutinationstiter zu bestimmen. Nur darf man eben nicht etwa aus der Differenz des Agglutinationstiters zweier Organismen den Schluß ziehen, daß der eine wirksamer und der andere weniger wirksam immunisiert sei. Vielmehr kommt nur die Differenz im Agglutinationstiter eines und desselben Individuums vor und nach der Injektion in Betracht, aus der dann allerdings der Schluß gezogen werden darf, daß der betreffende Organismus durch Veränderungen in seinem Serum auf die Injektion reagiert hat.

Fall 1. 1. Injektion 15. XI. 09. 0·3 ccm subkutan.

Klinische Erscheinungen: Schwellung, Rötung, klopfender Schmerz an der Injektionsstelle; nach einigen Stunden Kopfschmerzen, Kreuzschmerzen, Mattigkeit, Schüttelfrost. Nach 48 Stunden Besserung, lokal bestanden noch Druckempfindlichkeit, außerdem mehrere Tage lang Kopfschmerzen und Müdigkeit.

Agglutinationstiter: Vor der Behandlung 1:10, nach der Behandlung 1:40.

Weitere Injektionen wurden nicht mehr gemacht.

Fall 2. 1. Injektion 15. XI. 09. 0·3 ccm subkutan.

Nach 3 Stunden ein Dampfbad, woraufhin sowohl die Lokal- als Allgemeinerscheinungen ausblieben.

2. Injektion 22. XI. 09. 0·8 ccm subkutan.

Nach einigen Stunden dieselben Erscheinungen wie bei Fall 1. Die Schmerzen an der Injektionsstelle waren nach 4 Tagen noch ziemlich erheblich, Kopfschmerzen und Mattigkeit blieben während der ganzen Dauer der Behandlung bestehen.

3. Injektion 29. XI. 09. 1 ccm subkutan.

Klinische Erscheinungen: Mäßige Steigerungen der Schmerzen an der Injektionsstelle, die nach 24 Stunden wieder abgeklungen sind, Kopfschmerzen bestehen noch einige Tage fort.

4. Injektion 2. VII. 10 (7 Monate nach Abschluß der ersten Behandlung). 0·3 ccm.

Klinische Erscheinungen: Weder lokal, noch allgemein irgendeine Reaktion.

Agglutinationstiter: Vor der Behandlung 1:20, nach der Behandlung (Anfang Dezember 1909) 1:80.

Fall 3. 1. Injektion 15. XI. 09. 0·3 ccm subkutan.

Erscheinungen wie bei Fall 1.

2. Injektion 22. XI. 09. 0·8 ccm subkutan.

Klinische Erscheinungen: 1/4 Stunde nach der Injektion sehr heftiger Kopfschmerz, Übelkeit, Erbrechen, Puls 140, unregelmäßig, Schüttelfrost; Temperatur nach 4 Stunden 39·8, nach 12 Stunden 39·0. Puls klein, beschleunigt.



Am nächsten Tage lokale Beschwerden mäßig, Puls 90, regelmäßig, Temperatur normal. Nach 48 Stunden beschwerdefrei.

Weitere Injektionen wurden nicht mehr gemacht.

Agglutinationstiter: Vor der Behandlung —, nach der Behandlung nicht bestimmt.

Fall 4. Es wurden zwei Injektionen gemacht, am 15. XI. und am 22. XI. 1909, welche beide die klinischen Erscheinungen wie bei Fall 1 hervorriefen. Der Agglutinationstiter vor der Behandlung 1:20, nach der Behandlung 1:160.

Am 15. XII. 1910, also 13 Monate später, Reinjektion von 0·3 ccm.

Klinische Erscheinungen: Rötung und Schwellung an der Injektionsstelle, Kopfschmerzen und Mattigkeit; nach 48 Stunden vollkommen beschwerdefrei.

Diese Beobachtungen am Menschen sprechen dafür, daß eine Reinjektion einer kleineren Menge Typhusschutzimpfstoff nach einem Intervall von sechs Monaten bis zu einem Jahr keine Bedenken hervorzurufen geeignet ist. Eine inzwischen ausgeführte Reinjektion von ganz analog hergestelltem Choleraimpfstoff, welche bei einer vor Jahresfrist dreimal geimpften Person nach zwölf Monaten ausgeführt werden konnte, zeigte auch bei der Cholera, daß irgendwelche anaphylaktische Störungen nicht beobachtet werden konnten.

Die bei Fall 3 anschließend an die zweite Injektion aufgetretenen Störungen sind unseres Erachtens nicht als anaphylaktische aufzufassen. Dagegen spricht einmal das kurze Intervall zwischen Injektion und Reinjektion, welches nur acht Tage betrug, eine Frist, die selbst beim Meerschweinchen zur Ausbildung der Anaphylaxie nicht genügt, ferner fehlten bei diesem Fall gerade die für die menschliche Anaphylaxie charakteristischen Hautveränderungen, Ödeme und Dispnoe.

Eine Würdigung der klinischen Erscheinungen in bezug auf die Frage der Verwendbarkeit eines bei 53° abgetöteten Typhusschutzimpfstoffes wird weiter unten erfolgen.

Tierversuche zur Vergleichung der Wirksamkeit des bei 53° und bei 60° abgetöteten Typhusimpfstoffes.

Von sechs Kaninchen wurden je drei am 4. VI. 1909 mit 0·3 ccm, am 9. VI. 1909 mit 0·8 ccm, am 14. VI. 1909 mit je 1 ccm von 53°- und 60°-Impfstoff intravenös behandelt. Am 23. VI. wurden Serumproben entnommen und der Agglutinationstiter sowie der bakterizide Titer bestimmt. Es ergab sich:

A. Kaninchen mit 60°igem Impfstoff vorbehandelt:
   Tier 1: Agglutinationstiter 1:500, bakterizider Titer 1:30 (im Plattenverfahren bestimmt).
   Tier 2: Agglutinationstiter 1:300, bakterizider Titer 1:20.
   Tier 3: Agglutinationstiter 1:500, bakterizider Titer 1:30.



B. Kaninchen mit 53°igem Impfstoff vorbehandelt:
Tier 1: Agglutinationstiter 1:500, bakterizider Titer 1:20.
Tier 2: Agglutinationstiter 1:700, bakterizider Titer 1:40.
Tier 3: Agglutinationstiter 1:400, bakterizider Titer 1:20.

Aus den Tierversuchen ergibt sich, daß die Antikörperproduktion bei beiden Impfstoffen im wesentlichen die gleiche ist. Auf die geringen Unterschiede im Agglutinationstiter ist wohl kein großer Wert zu legen. Auffallend ist der geringe bakterizide Titer, der kaum den Titer des normalen Kaninchenserums übersteigt. Vielleicht rührt dies von der Vorbehandlung mit abgetöteten Bazillen her, da ja ein hoher Titer bakterizid im allgemeinen eher durch Injektion lebender Bazillen erzielt wird.

Der Pfeiffersche Versuch konnte nicht ausgeführt werden, da der Stamm „151" seine Meerschweinchenpathogenität eingebüßt hat.

Aus der serologischen Prüfung ist also ein Vorzug des bei 53° abgetöteten Impfstoffs vor den bei 60° abgetöteten nicht zu ersehen. Aus den oben mitgeteilten klinischen Beobachtungen beim Menschen (Fall 3) ergibt sich aber ein Nachteil für den 53°-Impfstoff. Es kam in diesem Falle zu recht unangenehmen und bedrohlichen Erscheinungen. Berücksichtigt man, daß die praktische Anwendung der Typhusschutzimpfung im wesentlichen für militärische Zwecke in Betracht kommt, wo es die Verhältnisse mit sich bringen, daß die Geimpften kurz nach der Injektion unter Umständen größeren körperlichen Anstrengungen ausgesetzt sein können, so ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß die durch die Injektion des 53°-Impfstoffes hervorgerufenen unangenehmen klinischen Erscheinungen zu bleibenden Gesundheitsstörungen, namentlich von seiten des Herzens führen können. Da unter der großen Zahl der bis jetzt mit dem bei 60° abgetöteten Impfstoff behandelten Personen ernstere Zwischenfälle nicht bekannt geworden sind, so empfiehlt es sich unseres Erachtens, bei der Methode zu bleiben. Jedenfalls liegt kein zwingender Grund vor, sich wegen eines, zudem noch nicht einmal sicher feststehenden Vorteils — der intensiveren Antikörperbildung — der Gefahr unangenehmer Zwischenfälle und eventuell dauernder Gesundheitsstörung durch die Behandlung mit dem bei 53° abgetöteten Impfstoff auszusetzen.



Die Küche in Massenverpflegungs-Anstalten für Kranke und für Gesunde.

Von

Dr. **Wilhelm Sternberg,**
Spezialarzt für Ernährungstherapie in Berlin.

Massenverpflegungs-Anstalten für Gesunde nehmen das Interesse der Hygiene ebenso in Anspruch wie Massenverpflegungs-Anstalten für Kranke. Bereits Voit[1] hat beide Arten von Anstalten zusammengefaßt, indem er mit Schuster, Renk und Forster die Kost in Krankenhäusern gemeinsam mit der in Volksküchen, im Waisenhause, in Gefängnissen und in Pfründner-Anstalten untersuchte. Der Typus einer Anstalt für Kranke ist das Krankenhaus. Der Typus einer Massenverpflegungs-Anstalt für Gesunde ist in der Industrie das Restaurant oder das gewerbliche Hotel, auch das fahrende Restaurant, der Speisewagen in der Eisenbahn, und das schwimmende Hotel des Dampfers.

Den Bau der industriellen Anstalt bestimmt die Küche. Diese moderne Kochküche im Großbetrieb habe ich[2] eingehend beschrieben. Aber für Anlage und Bau des modernen Krankenhauses ist nicht das Kochhaus maßgeblich, sondern das Operationshaus. Zwar wird auch im modernen Operationshaus viel gekocht; denn jeder Verband und jedes Instrument wird ausgekocht. Auch achtet die heutige Chirurgie mehr als je auf Sauberkeit, ganz wie die Küche. Dennoch sind aber Kochen und Sauberkeit in der inneren und äußeren Medizin grundsätzlich verschiedene Begriffe.

[1] *Untersuchung der Kost in einigen öffentlichen Anstalten.* München 1877.

[2] Die moderne Kochküche im Großbetrieb. *Diese Zeitschrift.* 1909. Bd. LXIII. S. 177—198.

Schon tritt auch die „schwarze Küche“ oder „die lateinische Küche“, die Apotheke, in der neuzeitlichen Anstalt mehr und mehr zurück. Und wenn die Kochküche wirklich schon einmal besondere Beachtung findet, dann ist es doch zumeist nur die Milchküche, wie ich[1] hervorgehoben habe.

So kommt es, daß in der modernen Anlage des Krankenhauses die Küche bloß wie ein Nebenraum angesehen, nebensächlich behandelt und daher exzentrisch an die äußerste Peripherie verlegt wird. Damit wird aber die Herstellung der Schmackhaftigkeit und der individuellen Genußfähigkeit, die im Massenbetrieb ohnehin nicht leicht ist, besonders erschwert.

Zufolge meiner unausgesetzten Hinweise auf diese Einbuße des Geschmacks der Küche scheint sich allmählich eine Reform in der Krankenhaus-Küche vorzubereiten. Man will dazu übergehen, die exzentrische Lage zu verlassen und das Kochhaus ins Zentrum zu verlegen. Diesen Reformvorschlag aber, den ich für kleine Anstalten gemacht habe, dehnen Schmieden und Boethke[2] sogar für größere Krankenhäuser aus, in einem Aufsatz, der auch in der Literatur der Militär-Hygiene[3] Beachtung findet.

Allein bei diesem Vorgehen in größeren Spitälern wird die individuelle Ernährung doch gleichfalls unmöglich. Auch damit erreicht man doch nur das, was man mit dem Worte „Kasernierung“ zu kennzeichnen pflegt, indem man an das Schematische des Kasernenbaues in wenig schmeichelhafter Weise erinnern will. „Stallkrankenhaus“ nennt Kerschensteiner[4] den Bautypus, den Grober[5] in seiner Schrift über den Krankenhaus-Bau bevorzugt. Ich[6] habe darüber bereits berichtet.

Deshalb habe ich von Anfang an die Dezentralisation der Küche nach dem Muster der industriellen Hotels für größere Anstalten empfohlen. Dieser Forderung macht man aber den Vorwurf, daß sie zu außerordentlichen Teuerungen führt. Und doch hat man tatsächlich diese Dezentralisation der Küchen in Massenverpflegungs-Anstalten für Gesunde schon durchgeführt und zwar gerade da, wo die größte Sparsamkeit geübt wird. Und das ist der Fall in Kasernen.

Somit müssen nunmehr Kasernen und Krankenhäuser unter einem Gesichtspunkt betrachtet werden. Das mag eigentümlich erscheinen. Allein für den Bau von Kasernen und von Heilanstalten bieten sich

[1] Die Milchküche und die allgemeine Krankenküche in der Klinik. *Centralblatt für allgemeine Gesundheitspflege.* 1911. S. 187.

[2] Vorschläge zur Weiterentwicklung des Krankenhausbaues. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1911. Nr. 14.

[3] *Deutsche militär-ärztliche Zeitschrift.* 5. Mai 1911. Hft. 9. S. 381.

[4] *Münchener med. Wochenschrift.* 29. Aug. 1911. Nr. 35. S. 1877.

[5] *Handbuch für Bau, Einrichtung u. Betrieb der Krankenanstalten.* Jena 1911.

[6] *Die Heilanstalt.* 14. Sept. 1911. Nr. 17. S. 268.

ohnehin viele gemeinsame Anknüpfungspunkte. Daher hat bereits vor drei Dezennien Ludwig Degen[1] in einer Monographie beide Anstalten vereinigt: „Das Krankenhaus und die Kaserne der Zukunft, nach den Grundsätzen der Gesundheitslehre.“

Kaserne des Infanterie-Regiments Nr. 27 in Halberstadt.

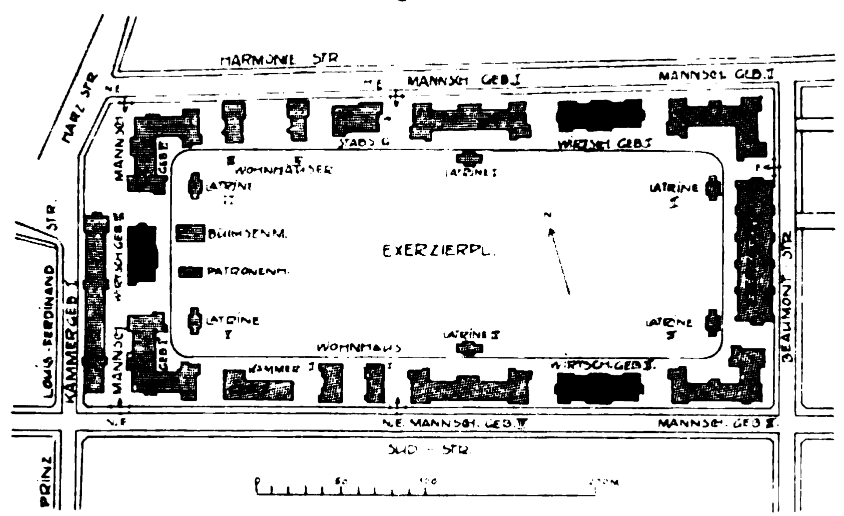


Fig 1.

Lageplan.

Die Dezentralisation der Küchen in Massenverpflegungs-Anstalten für gesunde Militärs zeigt sich am besten in den Neubauten der Kasernen für das 27. Infanterie-Regiment „Prinz Louis Ferdinand von Preußen“ in Halberstadt und der neuen Feldartillerie-Kaserne in Straßburg i/E., die in dem „Zentralblatt der Bauverwaltung“ jüngst beschrieben worden sind.

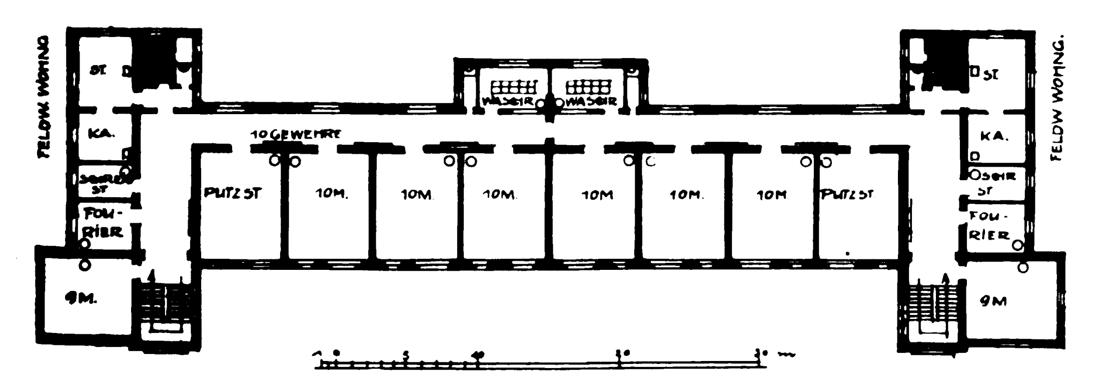


Fig. 2.

Mannschaftsgebäude I. Erdgeschoß.

[1] Fürstlich von Thurn und Taxisscher Baurat. München 1882. J. Lindauer (Schöpping).

Die neuen Kasernen für das 27. Infanterie-Regiment „Prinz Louis Ferdinand von Preußen“ in Halberstadt, deren Bau[1] 1905 begonnen und 1909 beendet ist, haben ein Gelände von 7·6 ha. Sie sind also so groß fast wie das Düsseldorfer Krankenhaus oder die neuen Anstalten in Barmen, Karlsruhe u. a. m., deren Gelände 8·8 ha betragen. Die Anordnung der Gebäude (s. Fig. 1) ist so erfolgt, daß sechs große Mannschaftsgebäude, von denen jedes zwei Kompagnien beherbergt, als Eck- und Mittelpfeiler aus der Gebäudegruppe hervorragen. Und was höchst bemerkenswert und vorbildlich für den Bau des Krankenhauses der Zukunft ist, das ist die Tatsache, daß zwischen je zwei Mannschaftsgebäuden ein besonderes Wirtschaftsgebäude errichtet ist. Es besteht eben das Prinzip beim modernen Kasernen-Bau, immer 1 Bataillon (500) als Einheit zu betrachten, der man eine Küche zuerteilt und zwar gerade ins Zentrum der Anlage hinein.

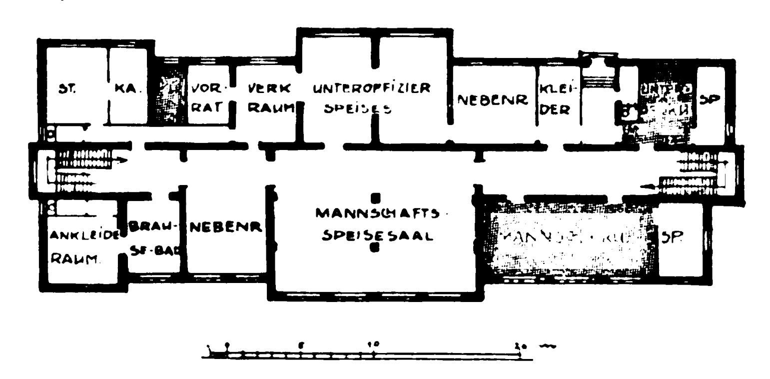


Fig. 3.
Wirtschaftsgebäude I. Erdgeschoß.

Das bestimmt schon die Garnison-Gebäudeordnung.[2] Damit ist die Dezentralisation der Küchen für Gesunde längst durchgeführt, bevor ich sie aus theoretischen Gründen für die Kranken gefordert hatte.

In der Mitte der Anlage befindet sich das Stabsgebäude mit Wache und Haupteingang; vier Wohngebäude für die Verheirateten, ein großes Exerzierhaus, zwei Kammergebäude, die Büchsenmacherei und das Patronenhaus sind in zweckmäßiger Weise in der Gruppe verteilt. Von den Gebäuden umschlossen wird der große Exerzierplatz.

Die Mannschaftsgebäude (s. Fig. 2) sind dreigeschossig eingerichtet für zwei Kompagnien. Jede Kompagnie besitzt außerdem eine Feldwebel- und eine Offizierswohnung.

[1] *Centralblatt der Bauverwaltung.* 5. Januar 1910. Nr. 2. S. 9—11. — 12. Jan. 1910. Nr. 4. S. 21—22.

[2] *Garnison-Gebäudeordnung.* Erster Teil. Einrichtung der Kasernen. 1889. Berlin. S. 20. III. Koch- und Speiseanstalten. § 16,1. Mannschaftsküchen.

Die Wirtschaftsgebäude (s. Fig. 3), nicht weniger als drei, enthalten in einem Geschosse zwei vollständig getrennte Küchen. Das sind einmal die Mannschaftsküche und sodann die Unteroffiziersküche. Außerdem haben sie die nötigen Speiseräume, Verkaufsraum, Wohnung für den Kantinenwirt und eine Brausebadanlage für vier Kompagnien. Für die Unteroffiziere sind auch besondere Speisezimmer eingerichtet, die von den Mannschaftsräumen getrennt, durch eigene Eingänge betreten werden. Die Mannschaftsküche steht mit dem Mannschaftsraum durch eine Speiseausgabe in Verbindung. Die Kochanlage enthält Gemüse-, Fleisch-, Warmwasser-, Kaffee-Kessel, Etagenbratofen und Ausbratherd. Es bestehen also nicht weniger als sechs Mannschaftsküchen und sechs Unteroffiziersküchen.

Vier Wohngebäude (s. Fig. 4) sind für den Kaserneninspektor, für drei Kasernenwärter, für drei Büchsenmacher, für die verheirateten Vizefeldwebel und Unteroffiziere errichtet, die in je drei Geschossen zusammen

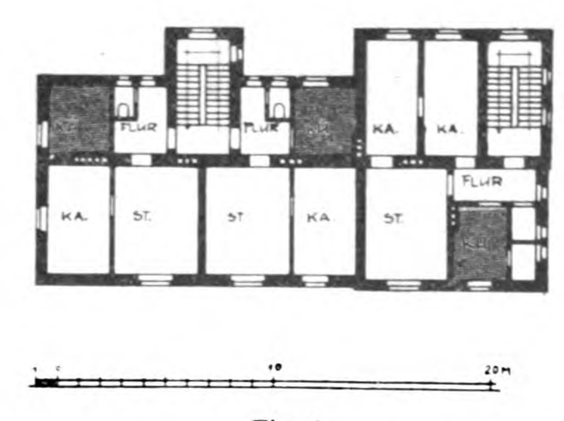


Fig. 4.
Wohnhaus an der Harmoniestraße. Erdgeschoß.

35 Wohnungen enthalten. Eine jede Wohnung besteht aus zwei Stuben, Kammer, Küche und Speisekammer. Eine gemeinsame Waschküche und Rollkammer befinden sich im Keller.

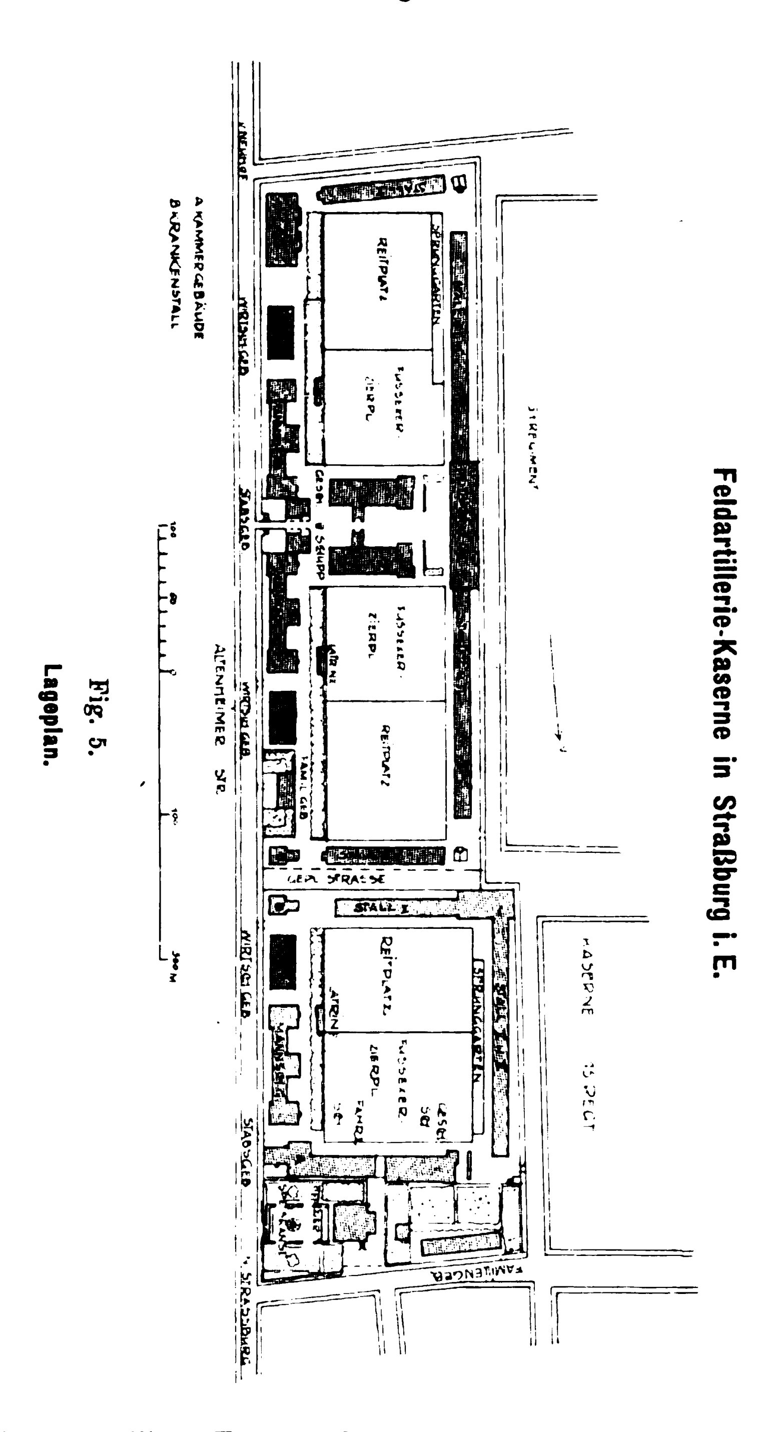
Das Prinzip ist also: Dezentralisation der Kochküchen, Zentralisation der Waschküche. Und dieser Grundsatz ist im weitesten Sinne durchgeführt.

Die neue Feldartillerie-Kaserne[1] in Straßburg i/E., 1909 vom 2. Oberelsässischen Feldartillerie-Regiment Nr. 51 und der 1. Abteilung des 1. Oberelsässischen Feldartillerie-Regiments Nr. 15 bezogen, hat einen Gesamtflächeninhalt von 13 ha. Sie ist also so groß wie die Charité oder das städtische Krankenhaus Lindenburg in Köln, kleiner zwar als das städtische Krankenhaus in Essen a. d. Ruhr, das 16 ha groß ist, oder das

[1] *Centralblatt der Bauverwaltung.* 3. Septbr. 1910. Nr. 71. S. 466—469. — 7. Septbr. 1910. Nr. 72. S. 473—474.



neue städtische Krankenhaus in München-Schwabing mit 18 ha, größer aber als das Krankenhaus in Nürnberg mit 10 ha oder in Aachen mit 11 ha.



Feldartillerie-Kaserne in Straßburg i. E.

Fig. 5. Lageplan.

Der kleinere nördliche Teil des Grundstückes wurde der 1. Abteilung des Regiments Nr. 15, der Offizierspeiseanstalt und dem größeren Familien-

gebäude nebst Inspektorwohnhaus zugeteilt, der größere südliche Teil den beiden Abteilungen des Regiments Nr. 51. Zwischen den beiden Kasernen ist eine 14 m breite Straße vorgesehen. Die gesamte Anlage (s. Fig. 5) umfaßt 36 Gebäude, deren Anordnung so getroffen ist, daß jede der Abteilungen einen für sich geschlossenen Bezirk bildet. Die einzelnen Gebäude wurden nach Möglichkeit in zusammenhängenden Baugruppen vereinigt, ein Vorgehen, das der baukünstlerischen Wirkung der Anlage in hohem Grade diente, ohne dabei einer vorteilhaften Bewirtschaftung durch die Truppe Abbruch zu tun.

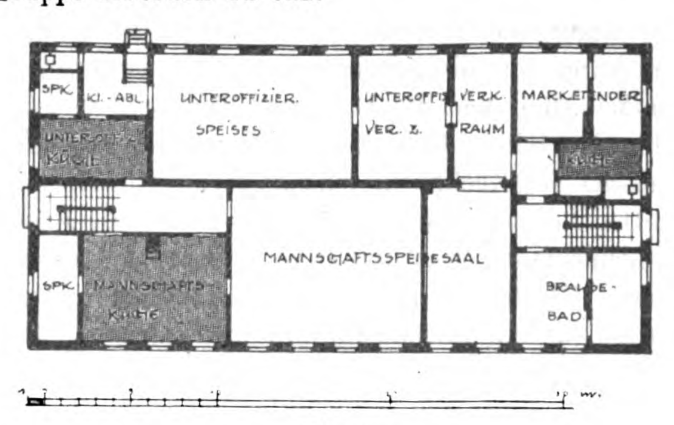


Fig. 6.
Wirtschaftsgebäude. Erdgeschoß.

Die Wirtschaftsgebäude (s. Fig. 6), an Zahl drei, sind über den Vorratsräumen des Kellers eingeschossig. Wiederum enthalten sie zwei vollkommen getrennte Küchen. Einmal haben sie nämlich die Mannschaftsküche mit dem Mannschaftsspeisesaal. Sodann enthalten sie Küche und Speisesaal für die Unteroffiziere. Im ganzen bestehen wiederum 2×6 = 12 Küchen.

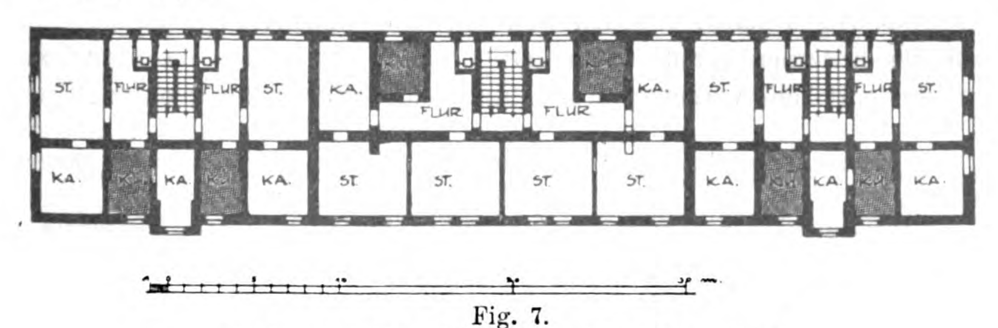


Fig. 7.
Großes Familiengebäude. Zweites Obergeschoß.

Die Familiengebäude (s. Fig. 7) für verheiratete Unteroffiziere sind dreigeschossig und zerfallen in drei durch Brandmauern getrennte Bauteile, deren jeder sechs Wohnungen aufnimmt. Die Wohnungen haben



zum größten Teil je eine größere und eine kleinere Stube, sowie eine Küche. Auf je neun Wohnungen entfällt eine im Keller angelegte gemeinsame Waschküche mit Rollkammer.

Die Offizierspeiseanstalt liegt in einem großen Garten. Das Gebäude dient den Offizieren der beiden Regimenter; dem Regiment Nr. 51 sind drei Gesellschaftszimmer und ein größerer Speisesaal, der 1. Abtlg. des Regiments Nr. 15 zwei Gesellschaftszimmer und ein kleinerer Speisesaal zugeteilt. In unmittelbarer Verbindung mit den Speisesälen, die bei Festlichkeiten zu einem großen Saale vereinigt werden können, stehen die beiden Anrichten.

Im Keller liegen die gemeinschaftlich betriebene Küche mit Speisekammer, zwei Anrichten, die mit denen des Erdgeschosses durch Speiseaufzüge verbunden sind, und die Bier- und Weinkeller.

Die Kochküchen sind also auch hier im weitesten Sinne dezentralisiert; im Gegensatz zur Kochküche sind wiederum die Waschküchen mehr zentralisiert. Der Betrieb läßt ja eben für die Wäsche sehr wohl die schematische, gemeinsame und uniforme Anlage und Anordnung ebenso wie für die ganze Kleidung zu. Dagegen zur Beköstigung gestattet auch der Massenbetrieb für die Kochküche diese Zentralisation durchaus nicht, deshalb nicht, weil die Physiologie der Ernährung für die Mundverpflegung im Gegensatz zur Kleidung ein durchaus individuelles Eingehen erfordert. Wenn daher Degen vor nahezu 30 Jahren den Wunsch ausspricht, es möchten endlich einmal die nicht unberechtigten Klagen über die schlechten Kasernen aufhören, so hat sich auch in diesem Punkte seine Hoffnung schon erfüllt. Von „Kasernierung" kann man heute nicht mehr in dem ironischen Sinne reden. Wenn aber Degen ehedem noch geklagt hat, daß in den bestehenden Verhältnissen, hier wie da, in der Kaserne und im Krankenhaus, so vieles der Änderung und Verbesserung bedarf, dann ist eben bloß das Krankenhaus rückständig geblieben. Somit kann, wie ich[1] bereits bewiesen habe, für den Bau des Krankenhauses der Zukunft der Bau der Kasernen geradezu maßgebend sein. Wiederholt habe ich[2] auf das mustergültige Vorgehen der Militärküche aufmerksam gemacht.

[1] Grundsätze der Ernährung für die Krankenküche. *Therapie der Gegenwart.* August 1908. S. 2.

[2] Die Militärküche. *Deutsche med. Presse.* 7. Juli 1909. Nr. 13. — Grundsätze der Ernährung für die Krankenküche. *Therapie der Gegenwart.* August 1908. S. 2. — Die Bedeutung der diätetischen Küche für die Schonungsdiät. *Ebenda.* Oktober 1909. S. 4. — Der Appetit in der experimentellen Physiologie und in der klinischen Pathologie. *Centralblatt für Physiologie.* Bd. XXIII. Nr. 10. S. 8. — *Die Küche in der klassischen Malerei.* Stuttgart 1910. S. 108 u. 146. Nr. 108. — Bau von Anstalten und Kasernen der Zukunft. *Die Heilanstalt.* 13. Juli 1911. Nr. 13. S. 203—204 u. 27. Juli 1911. Nr. 14. S. 220 u. 221. — Die Dezentralisation der Küchen im Krankenhaus. *Reichs-Medizinal-Anzeiger.* 10. November 1911. Nr. 23. S. 706.



Die fachwissenschaftliche Literatur über die Küche, über die Herstellung der Schmackhaftigkeit, über den Wert des Geschmacks und über die Technik der Zubereitung — das ist in rühmlichster Weise hervorzuheben — ist in keiner Wissenschaft so ausgebildet wie gerade in den Militärwissenschaften. Dabei kommt auch hier das Verdienst nicht etwa den Medizinern zu, sondern den aktiven Frontoffizieren und der Militärverwaltung. Hervorzuheben habe ich[1] bloß die Werke: J. Sentrup, Seconde-Lieutenant im 7. Thüringischen Infanterie-Regiment Nr. 96, „Der Fourieroffizier", Berlin 1869; Breithaupt, „Die Feldküche nach neuer Reform", Berlin 1884; „Die Militär-Dampfküche und Bade-Anstalt" von A. v. Nerée, Hauptmann und Kompagniechef im 3. Westfäl. Infanterie-Regiment Nr. 16, Berlin 1880; Major Hahn, „Die Zubereitung der Speisen im Kriege", Berlin 1892; „Praktische Winke für die Tätigkeit des Vorstandes der Küchenverwaltung" von H. v. A. (Gerhard Stalling, Oldenburg i. Gr.) 1908; Generalmajor Laymann, „Die Ernährung der Millionenheere des nächsten Krieges, Praktischer Ratgeber für die Truppen im Kriege und für Verpflegungsübungen im Frieden", Berlin 1908, und „Die Mitwirkung der Truppe bei der Ernährung der Millionenheere des nächsten Krieges", Berlin 1907; Generalmajor v. François, „Der Verpflegungsoffizier. Sein Dienst im Felde, seine Vorbildung im Frieden und die Verwendung der Feldküchen", Berlin 1909.

Die Militärverwaltung mißt eben der Organisation der Küche hohe Bedeutung bei, wie ich[2] bewiesen habe. Die ganze Anordnung der großen Feldübungen im Manöver, die besonders den Zweck verfolgt, den höheren Führer mit der Handhabung großer Truppenmassen im Felde vertraut zu machen, sieht in der rationellen Beköstigung und in dem regelrechten Abkochen mit eine ihrer vornehmsten Aufgaben. Daher verschmäht es die Militärverwaltung auch nicht, auf den geordneten Küchendienst besonders Obacht zu geben. Die Erprobung der fahrenden Feldküchen, der Küchenwagen, war sogar die einzige Neuerung, die neben der Prüfung der Kraftfahrzeuge für den Train bei den französischen Feldübungen vor kurzem in Betracht kam.

Die Dezentralisation der Küchen in Kasernen ist deshalb so bemerkenswert, weil hier einerseits die größte Sparsamkeit erforderlich ist, während andererseits in den Krankenhäusern, zumal für die Privatkranken und in den Privatsanatorien im Gegenteil große Ausgaben durchaus üblich sind. Die Dezentralisation in den Kasernen verdient aber noch aus zwei weiteren Gesichtspunkten Beachtung zur Nachahmung beim Bau der

[1] *Die Küche in der klassischen Malerei.* Stuttgart 1910. S. 146.
[2] *Die Küche in der modernen Heilanstalt.* Stuttgart 1909. S. 48.



Heilanstalt. Einmal nämlich handelt es sich bei den Mannschaften der Kasernen um junge gesunde Leute, die durch die körperliche Anstrengung stets das die Nahrungsaufnahme erleichternde und unterstützende Hungergefühl haben.

Und Hunger ist der beste Koch. Kranke aber haben niemals Hunger, der, die Mahlzeit würzend, auch über den Mangel an Wohlgeschmack hinweghilft. Sodann macht Arbeit dem Soldaten, der jungen gesunden Elite, auch noch Appetit. Das hebt das französische Sprüchwort hervor: „C'est un cadet de haut appetit." Die Krankheit aber macht selbst den kräftigsten Mann appetitlos. Appetitlosigkeit ist sogar das erste, ja mitunter das einzige Vorzeichen jeder beginnenden oder gar herannahenden Erkrankung.

Daher muß nach dem mustergültigen Vorgehen des Militärs beim Neubau von Kasernen, den Massenverpflegungs-Anstalten für Gesunde, auch für den Bau des Krankenhauses der Zukunft die Dezentralisation der Küchen durchgeführt werden. Jedenfalls darf den Bau des Krankenhauses der Zukunft nicht mehr wie bisher das Operationshaus bestimmen, sondern es muß für den Bau das Kochhaus maßgebend werden. Das habe ich[1] unlängst zu beweisen versucht.

[1] Der Bau des Krankenhauses der Zukunft. *Prager med. Wochenschrift.* 5. Oktober 1911. Nr. 40. S. 518—522.



[Aus dem hygienischen Institut in Kiel.]
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. B. Fischer.)

In welcher Konzentration tötet wässeriger Alkohol allein, oder in Verbindung mit anderen desinfizierenden Mitteln Entzündungs- und Eiterungserreger am schnellsten ab?

Von

Alfred Beyer,
Assistenten am Institut.

Wohl kaum ist eine Frage so oft behandelt und wohl nie so verschieden beantwortet worden, wie die nach der Wirkung der verschiedenen Alkoholkonzentrationen. Es gibt zwischen 40 Prozent und 90 Prozent keine Alkoholkonzentration, die nicht für die wirksamste erklärt worden wäre, und nur darin herrscht Übereinstimmung, daß die hohen und niedrigen Alkoholkonzentrationen schwächer bakterizid wirken. Ich kann mir diese so grundverschiedenen Resultate nur so erklären, daß die Versuche unter ganz verschiedenen Bedingungen aufgenommen wurden. Wie wichtig gerade bei der Alkoholdesinfektion eine stets gleiche Versuchsanordnung zur Erlangung verwertbarer Ergebnisse ist, habe ich erst im Laufe meiner Untersuchungen ermessen gelernt. Ich werde unten näher auf diese Beobachtungen eingehen.

Es scheint mir unnötig, alle Resultate, die bis jetzt bei den Versuchen mit Alkoholdesinfektionen erhalten wurden, einzeln aufzuführen, da ihre Zahl sehr groß ist; auch habe ich meine Versuche nach einem ganz flüchtigen Einblick in die Literatur sofort aufgenommen, weil mir die Verschiedenartigkeit der Versuchsanordnung und die nicht nur durch diese bedingte Verschiedenheit der Resultate kein annähernd klares Bild über Alkoholwirkung zu geben vermochte. So zahlreich die Desinfektions-



versuche mit Alkohol sind, ist doch keine einzige Arbeit so allgemein anerkannt, daß selbst in unseren Kliniken eine gleiche Konzentration verwendet würde. So erklärt es sich, daß es mir anfangs keine angenehme Aufgabe zu sein schien, die Zahl der Alkoholdesinfektionsarbeiten noch um eine erhöhen zu sollen. Doch erkannte ich sehr bald die Wichtigkeit dieser so oft angestellten Versuche und machte es mir deshalb zur Aufgabe, unter möglichster Ausschaltung der Fehlerquellen und steter Kontrolle der erhaltenen Resultate, diese Frage zu beantworten. Bei diesen Versuchen zeigte es sich, daß schon geringe Änderungen der Versuchsanordnung ganz verschiedene Resultate ergaben. Ich prüfte die verschiedenen Alkoholkonzentrationen von 40 bis 90 Prozent 8 mal ganz unabhängig voneinander, die Konzentrationen 50 und 75 Prozent außerdem 9 mal und die Wirkung des 70 prozentigen Alkohols allein 48 mal zu den verschiedensten Zeiten. 3 mal prüfte ich die Wirkung des 60 bis 75 prozentigen Alkohols und außerdem noch 2 mal die des 68 bis 72 prozentigen.

Noch häufigere Prüfungen der einzelnen nur um 1 Prozent differenzierenden Konzentrationen unterließ ich der großen für diesen Zweck erforderlichen Alkoholmengen wegen. Im Laufe meiner Arbeit erfuhr ich, daß es nicht genügt, die Konzentrationen mit einer Differenz von mindestens 5 Prozent zu prüfen. Weiter unten werde ich genauer auf diesen Punkt eingehen und lasse jetzt zunächst einige kurze Angaben aus der Literatur folgen.

Bertarelli erhielt bei der Händedesinfektion — 3 Minuten langes Bürsten mit 60 prozentigem Alkohol, ohne vorheriges Waschen mit Wasser und Seife, nach Infektion mit 48 Stunden alter Colibouillonkultur und $^1/_4$ stündigem Antrocknen — bei acht verschiedenen Versuchen in allen Fällen Sterilität der Handfläche; bei Abimpfung der Nägel wuchs bei dem ersten Versuch eine Kolonie, die jedoch kein Bacterium coli war.

Daß Alkohol in den verschiedensten Konzentrationen die Entwicklungsfähigheit von Milzbrandsporen selbst bei einer mehrere Monate dauernden Einwirkung nicht zu vernichten vermag, ist von verschiedenen Seiten auf Grund voneinander unabhängiger Versuche festgestellt. Ich konnte nach einer 3 monatigen Einwirkung der am stärksten bakterizid wirkenden Alkoholkonzentration keine Schädigung der Milzbrandsporen nachweisen, doch trat in verdünntem Alkohol kein Wachstum ein. Nach Robert Koch behindert Alkohol das Wachstum der Milzbrandsporen schon in einer Verdünnung von 1:167000, vermag sie jedoch nicht abzutöten. Äthylalkohol wirkt in Verdünnungen unter 2 Prozent wohl wachstumhemmend (Buchholz), doch erst von 2 Prozent an bringt er das Wachstum zum Stillstand, wenn genau darauf geachtet wird, daß der Alkohol nicht verdunsten kann.



Nach Wirgin tritt schon bei 0·1 Prozent Wachstumshemmung auf. Umfangreiche Versuche von Ahlfeld und Vahle ergaben, daß der absolute Alkohol auf angetrocknete Staphylokokken wirkungslos sei, feuchte tötet er schon in 2 Minuten ab. Poten spricht dem 48 prozentigen Alkohol die stärkste Wirkung zu.

Buchner, Fuchs und Megele halten den 60 prozentigen Alkohol für den wirksamsten. Epstein hat Versuche mit Prodigiosus, Staphylococcus, Pyocyaneus und sporogenen Milzbrandbazillen angestellt und gefunden, daß der absolute bis 80 prozentige Alkohol keine keimtötende Wirkung besäße, daß sie sich von 80- bis 50 prozentigen Alkohol steigere, in geringeren Prozenten wieder abnehme, nach 10 Minuten dauernder Alkoholeinwirkung zeigte sich nur Entwicklungshemmung.

Saul arbeitete mit siedenden Alkoholen, doch waren die Erfolge nicht günstig, was mir bei der niedrigen Siedetemperatur 78·3° nicht wunderbar erscheint, zumal den siedenden Dämpfen sehr wenig Wasserdampf beigemischt ist, und so die Dämpfe zu trocken sind, um überhaupt bakterizid wirken zu können. Die Resultate, die Minervini bei Seidenfädenkulturen erhielt, weichen von meinen Resultaten bedeutend ab. Lenger meint, der Alkohol wirke nur mechanisch bei der Hautdesinfektion, indem er dem nachfolgenden Desinfektionsmittel das Eindringen in die Haut ermögliche.

Mikulicz schreibt dem Alkohol eine konstringierende Wirkung zu, eine Ansicht, die die bessere Wirkung des verdünnten Alkohols im Gegensatz zum absoluten nicht zu erklären vermag.

Weigl fügt tropfenweise Alkohol hinzu, erhält aber so erst sehr langsam die Wirkung der jedesmal gewünschten Konzentration. Bei dem Überimpfen der in Alkohol aufgeschwemmten Kultur (er fügt in 20 ccm Bouillon 0·25 ccm des Gemisches) entsteht in den meisten Fällen eine Alkoholkonzentration, die noch innerhalb der Wirksamkeit der Alkoholverdünnungen liegt. Er schreibt dem 90- bis 80 prozentigen Alkohol die beste Wirkung zu. Als schnellste Abtötungszeit erhält er 10 Minuten.

Barsiekow hält den 40- bis 60 prozentigen Alkohol für den wirksamsten und erzielt nach 2 Minuten Sterilität.

Harrington und Walker haben gefunden, daß 100- bis 70 prozentiger Alkohol auf trockene Bakterien wirkungslos ist, Minervini, daß die antiseptischen Substanzen in Alkohol gelöst, merklich an Wirksamkeit gegenüber den wässerigen Lösungen verlieren. Dies gilt, wie von anderer Seite festgestellt ist, nur für einige Desinfektionsmittel; auch ich selbst habe bei verschiedenen Stoffen eine Abschwächung der bakteriziden Kraft durch Lösung in Alkohol gegenüber der wässerigen Lösung feststellen können.



Mikulicz hat sehr gute Erfolge mit Seifenspiritus gehabt und bei 40 prozentigem Alkohol nach 5 Minuten, ohne vorherige Reinigung mit Wasser, Sterilität der Hände erhalten. Auf einige andere Arbeiten werde ich weiter unten zurückkommen. Die Desinfektion mit Alkohol wird, wie ich gerade in letzter Zeit in Kreisen praktischer Ärzte hörte, vielfach für eine „Vogelstraußpolitik“ gehalten, weil teilweise angenommen wird, daß die Wirkung nur auf einer Austrocknung beruht, daß also nur auf eine zeitweise Wirkungslosigkeit der Bakterien herbeigeführt werde. Verschiedene Autoren legen das Hauptgewicht auf die adstringierende Wirkung; wieder andere sehen die Wirkung in der entstehenden Hauthyperämie. Alle diese Annahmen scheinen mir schon deshalb unhaltbar zu sein, weil keine einzige imstande ist, die schlechte Wirkung der hohen Alkoholkonzentrationen zu erklären. Der Satz von Krönig und Paul: „der entwicklungshemmende Wert chemischer Desinfizientien hängt also unter sonst gleichen Bedingungen lediglich von der Konzentration der Lösung ab, während der bakterizide Wert eine Funktion der Einwirkungszeit darstellt,“ findet bei dem Alkohol keine Anwendung oder doch modifiziert; **dem Alkohol,** der eine stark austrocknende Wirkung hat, **muß das Eindringen in die Bakterien, d. h. die Möglichkeit bakterizid zu wirken, durch Gegenwart von Wasser, geschaffen werden.** Die Alkoholdesinfektion unterscheidet sich aber prinzipiell von den meisten anderen Desinfektionsmitteln, indem hier außer der bei anderen Desinfizientien wirksamen Stärke der Konzentration ein zweiter Faktor hinzukommt, nämlich das Diffusionsvermögen des Alkohols. Möglichst hohe Alkoholkonzentrationen einerseits und möglichst hohe Differenzen in dem Feuchtigkeitsgehalt der Bakterien und dem gebrauchten Alkohol andererseits sind die günstigsten Bedingungen für die Alkoholwirkung. So erklärt sich die Wirksamkeit des trockene Staphylokokken konservierenden absoluten Alkohols auf feuchte Bakterienkulturen. Alcoholus absolutissimus, den ich mir selbst herstellte und in einer paraffinierten Stöpselflasche aufhob, hat in 6 Tagen auf die Staphylokokken keine schädigende Wirkung gezeigt. Die so behandelten Staphylokokken zeigten nach möglichst schneller Trocknung (ich hielt eine schnelle Trocknung für nötig, weil der verdunstende Alkohol alle Konzentrationen durchläuft und dadurch für einige Zeit sehr starke bakterizide Wirkung bekommt) in sterilem Filtrierpapier eine kaum geschwächte Virulenz gegen nachher angewandte Desinfektionsmittel, indem sie nur wenig hinter den frischen im Exsikkator angetrockneten Fäden zurückblieben. Der Alcoholus absolutissimus hat demnach eine konservierende Wirkung, denn ich konnte nachweisen, daß trocken aufbewahrte



Staphylokokken nach 6 Tagen schon eine merkliche Abnahme der Widerstandskraft gegen Desinfektionsmittel aufweisen. Im Exsikkator getrocknete Fäden erwiesen sich stets als widerstandsfähiger als im Brutschrank angetrocknete Fadenkulturen. Mit der Zunahme des Salzgehaltes der Aufschwemmung nimmt die Widerstandskraft der angetrockneten Bakterien ab. Es ist also bei den Versuchen auf stets gleiche Züchtung und Trocknung zu achten. Das Wasser ermöglicht erst das Eindringen des als Gift wirkenden Alkohols in die Bakterien. Tatsächlich steigt beim Zusetzen von Wasser zu absolutem Alkohol die bakterizide Kraft des Gemisches bis zu etwa 30 Prozent Wassergehalt, wo das Optimum der Wirkung durch genügende Konzentration des Alkohols einerseits, und das Eindringen ermöglichende Mengen von Wasser andererseits, erreicht ist. Bei stärkeren Verdünnungen ist zwar das Eindringen erleichtert, doch genügt dann die Alkoholkonzentration nicht mehr, um eine schnelle Abtötung zu erzielen. Auf feuchte Bakterien habe ich 75prozentigen Alkohol mit besserem Erfolg angewandt, ein Umstand, der mich in meiner Ansicht bestärkte. Daß die Wirkung des Alkohols nicht auf einer Wasserentziehung, sondern auf einer spezifischen Giftwirkung beruht, scheint mir außer dem soeben Ausgeführten auch daraus zu erhellen, daß die Fäden nach Übertragung in Bouillon, wo doch ein Wassergehalt wieder hergestellt werden müßte, kein Wachstum zeigen. Ich habe in meiner Arbeit nur mit an Seidenfäden angetrockneten Kulturen gearbeitet und als Nährböden nur Bouillon benutzt, um für alle Versuche gleiche Bedingungen und daher vergleichbare Resultate zu bekommen. Da die Widerstandskraft der Bakterien bei verschiedenen Austrocknungsmethoden (Exsikkator und Brutschrank) verschieden ist, habe ich stets mit im Brutschrank getrockneten Kulturen gearbeitet; dies Verfahren ist bedeutend einfacher und deshalb bei Gebrauch sehr vieler Testkulturen empfehlenswert.

Während im Exsikkator angetrocknete Kulturen in 1 Promille Sublimat nach 29 Minuten Abtötung zeigten, war der im Brutschrank getrocknete Faden bereits nach 26 Minuten steril.

Ich glaubte, die Versuche wesentlich zu vereinfachen, wenn ich nur zwischen Wachstum und Sterilität unterschied, ohne dabei auf die Begriffe: Anfang der Behinderung im Wachstum und Entwicklungshemmung, die R. Koch in seiner Arbeit[1] unterscheidet, zu achten, da es mir in praxi im wesentlichen nur hierauf anzukommen scheint. Die Beobachtungszeit dauerte stets 8 Tage und die Röhrchen wurden, wenn das

[1] R. Koch, Über Desinfektion. *Mitt. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1881.



Wachstum dann ausblieb, als negativ (—), wenn bis zu dieser Zeit Trübung eingetreten war, als positiv (+) bezeichnet. Zur Hauptsache beschränkte ich mich auf Untersuchungen mit Staphylokokken, als den widerstandsfähigsten Vertretern der vegetativen, und den Milzbrandsporen, als der widerstandsfähigsten Dauerform. Die gefundenen Resultate prüfte ich nachher durch Versuche mit Pyocyaneus, Streptococcus und sechs verschiedenen Pilzen. Ich verwandte während der ganzen Zeit stets den gleichen Staphylokokken- und Milzbrandstamm und trocknete stets die mit Kultur getränkten Fäden im Petrischälchen bei einer Temperatur von 37°. Die Staphylokokkenkulturen waren 24 und die Milzbrandkulturen 48 Stunden alt. Die Kulturen wurden auf schrägen Agarröhrchen angelegt, dann in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und in einem Petrischälchen über die etwa 1 cm langen Seidenfäden Nr. 9 gegossen. Trotzdem sich praktisch in 3 bis 4 Tagen bei Staphylokokken kein Abnehmen der Widerstandskraft finden ließ, pflegte ich die Kulturen nur 2 Tage zu benutzen und am 3. Tage mit neu hergestellten Fäden die Versuche fortzusetzen. Die Milzbrandsporen benutzte ich, bis die jedesmal hergestellten Fäden verbraucht waren, was gewöhnlich in etwa 6 bis 7 Tagen der Fall war.

Als Nährmedium schien mir die Bouillon sehr günstig zu sein, weil es einerseits die bequemste Methode war, die Fäden in Nährböden zu bringen und andererseits die geringen Mengen des Desinfektionsmittels, die an den übertragenen Fäden bleiben, als entwicklungshemmend, nicht in Betracht kommen. Gilt dies einerseits für den Alkohol, so war die Bouillon zur Aufnahme der mit Jodtinktur behandelten Fäden deshalb sehr günstig, weil Jodtinktur in Bouillon sofort entfärbt wird, indem, wie ich nachweisen konnte, Jodpepton entsteht, das keine desinfizierende Wirkung zu haben scheint, wenigstens konnte ich Staphylokokken, die von Jodtinktur in 5 Sekunden abgetötet wurden, in einer konzentrierten Jodpeptonlösung selbst in 1 Tage nicht abtöten. Der Zusatz von etwa 2 ccm Jodtinktur zu 10 ccm Bouillon hatte keine Entwicklungshemmung zur Folge. Die Jodtinktur wird bei langsamem Zusatz zur Bouillon sofort, bei schnellem allmählich vollkommen entfärbt, während dieselbe Menge Jodtinktur zu 10 ccm Alkohol gesetzt, intensive braune Färbung zeigt. Es war mir also möglich, die braunen Jodfäden sofort in die Bouillon zu übertragen, ohne eine länger dauernde Einwirkung des Jods befürchten zu müssen. Ich spülte die mit Jodtinktur behandelten Milzbrandfäden zunächst in absolutem Alkohol, da dieser selbst bei Staphylokokken unwirksam ist. Nachdem ich die chemische Bindung von Jod durch Pepton nachgewiesen hatte, beschränkte ich mich auf die mir noch besser erscheinende einfache Übertragung in die sterile Bouillon. Verschiedene mit Fäden be-



schickte Röhrchen, die steril blieben, beimpfte ich nachher mit einer Öse Staphylokokken, um nachzuweisen, daß die mit den Fäden übertragene Menge des Desinfektionsmittels nicht etwa an sich schon Wachstumshemmung verursacht und dadurch Sterilität vorgetäuscht hatte. Es trat dabei in allen Fällen üppiges Wachstum der übertragenen Staphylokokken ein. Das Wachstum war bei den Bouillonröhrchen leicht durch die Trübung nachzuweisen, da kein einziges der benutzten Desinfektionsmittel eine Trübung hervorrief.

Nach Laubenheimer: „Phenol und seine Derivate als Desinfektionsmittel" sind bei der Anwendung der Bouillonmethode größere Mengen des Desinfektionsmittels nötig, um eine Aufhebung des Bakterienwachstums zu erzielen, als bei Benutzung von Agar als Nährböden. Dieser Umstand scheint mir ein weiterer Vorteil dieser Methode zu sein, und gerade bei Alkoholdesinfektionen besonders wichtig, weil ein Übertragen von mit Alkohol behandelten Fäden auf Agar oder ähnlichen Nährböden ganz andere Resultate ergibt. Bei Übertragung in Bouillon findet sofort durch Diffusion eine so starke Verdünnung des Alkohols statt, daß von einer Desinfektion nach dem Übertragen nicht gesprochen werden kann, während bei Übertragung auf Agar die Alkoholdesinfektion nicht nur nicht gehindert wird, sondern bei hohen Konzentrationen dann erst energisch desinfizierend zu wirken vermag. Mit 60 prozentigem Alkohol behandelte Fäden zeigten, in Bouillon übertragen, in 34 Minuten Sterilität. Auf schrägem Agar trat schon in 32 Minuten kein Wachstum mehr ein. Deutlich und unter Umständen zu irrigen Resultaten führend, wird dies beim 75 prozentigen Alkohol. Während ich beim Übertragen in Bouillon in drei Fällen nach 7 Minuten Sterilität erzielte, waren die Fäden, auf Agar übertragen, in zwei Fällen schon nach 3 Minuten steril. Aus diesem Grunde halte ich flüssige Nährböden bei Alkoholdesinfektionsversuchen für die geeignetsten.

Löffler hat bei Prüfung der Widerstandsfähigkeit der Rotzbazillen eine Spülung in sterilem Hammelserum vorgenommen, um das zur Desinfektion verwandte Sublimat chemisch zu binden, doch konnte er keinen Unterschied gegen Spülung mit destilliertem Wasser nachweisen.

Seligmann und Schneider empfehlen die Kochsche Methode der Antrocknung an Seidenfäden, weil jede andere Methode mit großen Umständen verknüpft ist und mannigfache Fehlerquellen bietet, wie schon daraus hervorgeht, daß zahllose Methoden angegeben sind, um diese auszuschalten, ohne daß irgend eine für alle Bakterienarten einwandfrei wäre.

Bellei, Zikes, Schneider, Ballner, Vahle, Emmerich, Uebelmesser, Seybold, Heider, Gruber, Geppert und Rapp haben die verschiedensten Methoden angegeben, um die Wirkung des verwendeten

Desinfektionsmittels sofort bei Übertragung auf Nährböden auszuschalten, teils durch chemische Bindung, teils durch sehr große Verdünnungen nach der Desinfektion. Diese Methoden erfordern neben einer sehr großen Technik eine genaue Kenntnis der Chemie, so daß eine einzige Methode für alle Versuche nicht anwendbar erscheint. Während z. B. Sublimat chemisch durch Schwefelammonium, Phenol und Formaldehyd durch Ammoniak gebunden wird, ruft z. B. Alkohol nach einer Verdünnung bis 0·1 Prozent keine Entwicklungshemmung mehr hervor, so daß hier die einfache Verdünnung genügt. Ich habe bei den von mir verwandten Desinfektionsmitteln Fäden ohne weitere Behandlung in Bouillon übertragen, was mir kein großer Fehler zu sein scheint, da die gewöhnliche, sowie entfärbte Jodtinktur wie auch der Alkohol eine chemische Behandlung nicht erheischten. Bei Verwendung der ätherischen Öle habe ich als Spülflüssigkeit absoluten Alkohol, bei anderen Desinfektionsmitteln nach Schneiders und Seligmanns Angabe zur Spülung 1 Prozent Natronlauge verwendet, da ich nach Anwendung dieses Mittels bei Staphylokokken ganz erheblich größere Widerstandskraft nachweisen konnte. Außer sterilen viereckigen Stückchen einer leinenen Serviette und kleinen Stückchen eines alten Wildlederhandschuhes verwandte ich keine Unterlage für die Testbakterien. Die Verwendung von Gelatineplättchen, Glasstückchen, Nägeln, Granaten oder anderen Testunterlagen erschien mir teils sehr umständlich, teils glaubte ich, die Fehler, die ich zu vermeiden suchte, dadurch nur zu vergrößern, da z. B. Filtrierpapier das Desinfektionsmittel in größeren Mengen überträgt und schwer abgibt, während sehr glatte Oberflächen, wie Glas oder Stahl, die Widerstandskraft der Bakterien durch unmittelbare Erreichbarkeit für das Desinfektionsmittel auf das äußerste beschränkt, so daß sie denselben ähnlich wie in einer Suspension ausgesetzt sind. Die Resultate werden gegenüber jeder anderen Methode bedeutend verbessert, während doch in der Praxis derartig günstige Bedingungen für die Abtötung wohl nie gegeben sind; glatte Unterlagen scheinen mir auch deshalb sehr wenig geeignet, weil ein Loslösen der angetrockneten Bakterien bei dem mehrfachen Übertragen wohl denkbar wäre und so Sterilität vortäuschen könnte.

Bevor ich mit den einzelnen angestellten Versuchen beginne, will ich einige Untersuchungen mit Alkohol vorausschicken, die ich anstellen zu müssen glaubte, da sich schon bei Änderung der Konzentration um 1 Prozent ganz erhebliche Unterschiede herausstellten. Ich stellte deshalb Versuche über die Verdunstung von Alkohol bei Zimmertemperatur an und fand, daß der Alkohol etwa 8 mal schneller verdunstet als Wasser, es wird sich also die Konzentration zunächst proportional der an der Oberfläche der Flüssigkeit befindlichen Alkohol- bzw. Wassermenge verschieben. Auf



einer Oberfläche von 40 qcm wird absoluter Alkohol die ganze Oberfläche einnehmen und deshalb sehr schnell verdunsten, wobei eine sehr geringe Aufnahme von Wasser aus der Luft erfolgt, während bei wässerigem Alkohol ein, gegenüber den Gewichtsprozenten des Wassers, größerer Teil der Oberfläche von Alkohol erfüllt sein wird. Diese wird bis zu einem Höhepunkt zunehmen und dann bei geringerem Alkoholgehalt wieder abnehmen. Das spezifische Gewicht habe ich mit der Westphalschen Wage bestimmt, die Zahlen der entsprechenden Gewichts- und Volumprozente Alkohol habe ich aus verschiedenen Tabellen entnommen. Während also einerseits bei hohen Alkoholkonzentrationen die Verdunstung des Alkohols die vorhandene Flüssigkeitsmenge schnell verringern wird, ohne daß sich die Konzentration wesentlich ändert, wird bei Vorhandensein einer gewissen Wassermenge die Konzentration zunächst schnell, dann entsprechend der Abnahme des durch Alkohol eingenommenen Teils der Oberfläche langsamer vor sich gehen. Daß die Abnahme der Konzentration nicht proportional der Zeit ist, habe ich durch Versuche festgestellt. Die Feuchtigkeit und Temperatur der Luft, sowie andere Umstände, wie Luftzug und Barometerstand, die die Schnelligkeit der Verdunstung wesentlich beeinflussen, habe ich dadurch ausgeschaltet, daß ich nicht eine Alkoholmenge von einer hohen Konzentration bis zu einem schwachen Alkohol verdunsten ließ, sondern verschiedene Konzentrationen herstellte. Ich verwandte absoluten Alkohol, den ich durch Zusatz von 1, 2, 3, 4 usw. ccm Wasser verdünnte, und dessen spezifisches Gewicht ich dann bestimmte. Dadurch wirkten also die äußeren Einflüsse in gleicher Weise auf alle Alkoholkonzentrationen. Dabei war zu beachten, daß stets gleiche Mengen Alkohol in Schalen mit gleicher Oberfläche und von zylindrischer Form verwandt wurden, damit nicht beispielsweise die Verdunstung eines sehr flüchtigen Alkohols durch gleichzeitige Einschränkung der Oberfläche und dadurch eine scheinbare Verlängerung der Verdunstungszeit mit sich brächte. Bemerkenswert ist, daß eine doppelte Menge desselben Alkohols nicht in der doppelten Zeit die gleiche Konzentration zeigte, sondern daß dies etwas schneller vor sich ging. Bei einer Oberfläche von 100 qcm wurden z. B. 100 ccm eines 90prozentigen Alkohols in 50 Minuten zu einem 83prozentigen, während 200 ccm desselben Alkohols bei derselben Oberfläche nicht in 100 Minuten 83 Prozent, sondern 82·5 prozentig geworden war. Dieser Unterschied vergrößerte sich wesentlich bei kleinerer Oberfläche und dafür längerer Verdunstungszeit. 100 ccm eines 55prozentigen Alkohols mit der Oberfläche von 36·37 qcm hatten nach 17 Stunden eine Konzentration von 46 Prozent, während die doppelte Menge in 17 Stunden 49·7 Prozent und nach weiteren 20 Stunden 45·5 Prozent zeigte. Geringere Konzentrationen brauchten wie die starken Alkohole eine längere Zeit, um eine gleiche Zahl von Pro-



zenten an Konzentration zu verlieren. Der 70prozentige Alkohol verdunstet sehr schnell, und zwar scheint die schnellste Verdunstung zwischen 60 und 70 Prozent zu liegen. Weiter ist bei der Benutzung wässerigen Alkohols daran zu denken, daß beim Anfüllen absoluten Alkohols mit Wasser, die ganze Menge zugesetzten Wassers, durch die Menge des absoluten Alkohols dividiert, nicht den Prozentgehalt des Alkohols angibt, da gewissermaßen eine Zusammenziehung stattfindet, indem z. B. 54 ccm Alkohol und 46 ccm Wasser nicht die Menge von 100 ccm, sondern nur 96 ccm ergibt. Man erhält also beim einfachen Auffüllen von 30 ccm Wasser auf 70 ccm absoluten Alkohol nicht 100, sondern nur etwa 97·5 ccm wässerigen Alkohols. Diese Zusammenziehung ist bei absolutem Alkohol natürlich 0·000 und bei reinem Wasser auch 0,000. Bei dem Zusatz von Wasser zu dem Alkohol nimmt sie ständig zu und erreicht zwischen 50 und 60 Raumteilen Alkohol die größten Werte, indem hier die Zusammenziehung etwa 4 Prozent beträgt, bei 70prozentigem Alkohol beträgt sie noch etwa 3¹/₃ Prozent, bei 80prozentigem 2²/₃ Prozent, bei 90prozentigem 1²/₃ Prozent, bei 40prozentigem Alkohol beträgt sie etwa 3¹/₂ Prozent, bei 30prozentigem etwa 2²/₃ Prozent, bei 20prozentigem ist sie gleich der Zusammenziehung bei 80 Prozent und bei 10prozentigem Alkohol ist sie gleich dem bei 90prozentigem Alkohol.

Um nun Fehler bei der Herstellung des wässerigen Alkohols zu vermeiden, habe ich die Konzentrationen stets durch Mischung und nachherige Wägung mit der Westphalschen Wage und an der Hand einer Tabelle vorgenommen, wobei eben eine einfache Mischung stets Fehler, im Sinne des vorher angeführten, enthielt. Um die Verhältnisse etwas klarer darstellen zu können, füge ich eine Tabelle, die ich mir nach Feststellung des spezifischen Gewichtes an der Hand von Berechnungen und Tabellen zusammenstellte, an. Es stehen danach die Gewichtsprozente, das Volumgewicht und die Volumprozente in folgendem Zusammenhange:

Gewichts-Prozent	Volum-Gewicht	Volum-Prozent	Gewichts-Prozent	Volum-Gewicht	Volum-Prozent
100	0·7938	100·0	45	0·9292	52·0
95	0·8081	96·5	40	0·9396	47·0
90	0·8228	93·0	35	0·9490	41·0
85	0·8357	89·0	30	0·9576	35·5
80	0·8483	85·0	25	0·9652	29·5
75	0·8603	81·0	20	0·9716	23·5
70	0·8721	76·5	15	0·9778	17·5
65	0·8840	72·0	10	0·9841	11·0
60	0·8956	67·5	5	0·9914	5·5
55	0·9069	62·5	1	0·9981	1·0
50	0·9184	57·5			



Ein genaueres Eingehen auf diese Gesetze und die dadurch bedingten Erscheinungen der schnelleren oder langsameren Verdunstung, sowie die Veränderung dieser Verhältnisse bei verschiedenen Temperaturen, schien mir nicht in den Rahmen dieser Arbeit zu gehören, auch fehlen mir die Kenntnisse, diese Erscheinungen genauer zu erklären und ihre Gesetzmäßigkeiten zu berechnen. Als wichtig möchte ich nur nochmals hervorheben, daß die Konzentration bei allen diesen Versuchen ganz genau festzustellen, sowie im Laufe der Untersuchungen stets zu kontrollieren und korrigieren ist, weil schon verhältnismäßig geringe Schwankungen ganz ungeahnt große Verschiebungen in der Wirkungskraft hervorrufen. Ich habe mir zu diesem Zweck aus einem im Bunsenbrenner ausgezogenen Reagensglase einen Schwimmer hergestellt, der im 70prozentigen Alkohol bis zu einer Marke sank, so daß ich durch Zugießen von 96prozentigem Alkohol die vorherige Konzentration von 70 Prozent wieder herstellen konnte. Diese Methode hat sich mir schon deshalb als sehr praktisch erwiesen, weil die gebräuchlichen Alkoholometer nicht nur sehr teuer und daher schwer anzuschaffen, und wegen ihrer Zerbrechlichkeit noch schwerer zu ersetzen sind, als auch vor allen Dingen deswegen, weil der kleine Schwimmer nur eine geringere Tiefe und daher eine ungleich geringere Alkoholmenge erfordert, als das etwa 50 cm lange Alkoholometer. Erwähnt sei noch, daß sich der Alkohol lange Zeit in Flaschen in der vorhandenen Konzentration erhält und daß bei absolutem Alkohol, der in einer bis zum Halse gefüllten Flasche offen aufbewahrt wurde, während der Dauer von 8 Wochen keine Abnahme der Konzentration nachzuweisen war. Der 70prozent. Alkohol veränderte sich in einer mit Glasstöpsel verschlossenen Flasche während eines halben Jahres um 0·7 Prozent. Beim Abmessen der gewünschten Alkohol- und Wassermengen mittels einer Pipette erhielt ich in keinem Fall Resultate, die der Angabe des Alkoholometers entsprochen hätten.

I. Versuche mit Staphylokokken. Alkohol in verschiedenen Verdünnungen ohne Zusätze.

Ich werde zunächst die Resultate der reinen Alkoholdesinfektion bringen, die ich mit Staphylococcus aureus erhielt. Der von mir benutzte Stamm ist im Hygienischen Institut zu Kiel viel zu Desinfektionszwecken benutzt und sehr widerstandsfähig. Zunächst stellte ich mir eine Aufschwemmung der 24 Stunden alten Kultur in physiologischer Kochsalzlösung her, und füllte dann auf je 1 ccm dieser Aufschwemmung absuluten Alkohol bis zur Konzentration von 60 Prozent, 70 Prozent, 80 Prozent und



90 Prozent auf. Höhere Konzentrationen waren wegen der sonst gebrauchten großen Alkoholmenge und andererseits der starken Verdünnung der Aufschwemmung praktisch nicht zu empfehlen. Ein weiterer Übelstand dieser Methode besteht in der Unbequemlichkeit der Entnahme, indem eine Platinöse sehr wenig Bakterien enthält und bei der Entnahme mehrerer Ösen eine große Zeitdifferenz entsteht, die genaue Resultate ausschließt. Eine zweite Aufschwemmung stellte ich in Bouillon her und verfuhr im übrigen wie bei dem ersten Versuch. Auf die fehlende Übung bei Aufnahme der Versuche ist es zurückzuführen, daß es mir nicht gelang, früher als 1 Minute nach erfolgter Mischung zu entnehmen, zumal ich die Röhrchen zunächst tüchtig schütteln mußte, um eine Mischung mit dem darauf geschichteten Alkohol zu erzielen, ein Umstand, der mir weiter eine nicht zu unterschätzende Fehlerquelle dieser Versuchsanordnung zu sein scheint.

	Aufschwemmung in Bouillon				Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung			
	Alkohol				Alkohol			
	60 Proz.	70 Proz.	80 Proz.	90 Proz.	60 Proz.	70 Proz.	80 Proz.	90 Proz.
1 Min.	—	—	—	—	—	—	—	—
2 „	—	—	—	—	—	—	—	—

Die weiter angeführten Versuche führte ich in der vorher angegebenen Form aus. Zunächst stellte ich mir in hohen Petrischalen Verdünnungen des absoluten Alkohols her, dann brachte ich mit einer sterilen, jedesmal ausgeglühten Pinzette den Faden mit der angetrockneten Kultur hinein und entnahm ihn mit einer anderen sterilen Pinzette nach der gewünschten Zeit. Ich benutzte zunächst nur die mittleren Konzentrationen des Alkohols:

	40 Prozent	50 Prozent	60 Prozent	70 Prozent	80 Prozent	90 Prozent
1 Min.	+	+	+	—	+	+
2 „	+	+	+	—	+	+
3 „	+	+	+	—	+	+
4 „	+	+	+	—	+	+
5 „	+	+	+	—	+	+
6 „	+	+	+	—	+	+
7 „	+	+	+	—	+	+
8 „	+	+	+	—	+	+
9 „	+	+	+	(+)	+	+
10 „	+	+	+	—	+	+

Das Röhrchen 9 des 70prozentigen Alkohols war in einem Fall positiv (+), doch zeigte sich bei Übertragung auf Blutagar, daß die



Trübung nicht durch Staphylokokken hervorgerufen war, auch war es bei allen Parallelversuchen stets negativ.

	40 Proz.	50 Proz.	60 Proz.	70 Proz.	80 Proz.	90 Proz.	98·8 Proz.
5 Min.	+	+	+	—	+	+	+
10 „	+	+	+	—	+	+	+
15 „	+	+	—	—	+	+	+
20 „	+	+	—	—	+	+	+
25 „	+	+	—	—	—	+	+
30 „	+	+	—	—	—	+	+
35 „	+	+	—	—	—	+	+
40 „	+	+	—	—	—	+	+
45 „	+	+	—	—	—	+	+
50 „	+	—	—	—	—	+	+
55 „	+	—	—	—	—	+	+
60 „	+	—	—	—	—	+	+

Die vorstehende Tabelle zeigt, daß praktisch wohl nur der 60- bis 80prozentige Alkohol zu verwerten ist. Die angeführten Resultate sind nach 8tägiger Beobachtung aufgeschrieben. Nach 24 Stunden war starke Trübung in allen Röhrchen des 40prozentigen, in den acht ersten des 50prozentigen, in den neun ersten des 90prozentigen und in sämtlichen Röhrchen des 98·8prozentigen Alkohols vorhanden. Nach 48 Stunden zeigte das 10. Röhrchen 90prozentigen leichte Trübung und am 3. Tage war in mit + bezeichneten Röhrchen deutliche Trübung vorhanden. Röhrchen 9 des 50prozentigen, Röhrchen 1 und 2 des 80prozentigen und die beiden letzten des 90prozentigen Alkohols wurden mit Blutagar untersucht und zeigten Hämolyse.

Interessant ist es vielleicht, daß ich bei sämtlichen Versuchen feststellen konnte, daß die Röhrchen, sobald innerhalb 3 Tagen eine Trübung nicht aufgetreten war, auch für die Folgezeit steril blieben. In den meisten Arbeiten, in denen mit Bouillon als Nährboden gearbeitet wird, wird eine Beobachtungszeit von 8 Tagen verlangt. Dr. Laubenheimer hat in seiner Habilitationsarbeit dieselben Beobachtungen angeführt.

	Alkohol				
	60 Prozent	65 Prozent	70 Prozent	75 Prozent	80 Prozent
5 Min.	+	+	—	+	+
10 „	+	—	—	+	+
15 „	—	—	—	—	+
20 „	—	—	—	—	—
25 „	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—
35 „	—	—	—	—	—

(Fortsetzung.)

	Alkohol 68 Prozent	69 Prozent	70 Prozent	71 Prozent	72 Prozent
1 Min.	+	—	—	+	+
2 "	—	—	—	+	+
3 "	—	—	—	—	+
4 "	—	—	—	—	—
5 "	—	—	—	—	—
6 "	—	—	—	—	—
7 "	—	—	—	—	—
8 "	—	—	—	—	—
9 "	—	—	—	—	—
10 "	—	—	—	—	—

	Alkohol 65 Prozent	67 Prozent	70 Prozent	73 Prozent	75 Prozent
1 Min.	+	+	—	+	+
2 "	+	+	—	+	+
3 "	+	+	—	+	+
4 "	+	—	—	+	+
5 "	+	—	—	+	+
6 "	+	—	—	+	+
7 "	—	—	—	—	+
8 "	—	—	—	—	+
9 "	—	—	—	—	+
10 "	—	—	—	—	+

	Alkohol 10 Proz.	20 Proz.	30 Proz.	40 Proz.	50 Proz.	60 Proz.	70 Proz.	80 Proz.	90 Proz.	98 Proz.
1 Std.	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+
2 "	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+
3 "	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+
4 "	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+
5 "	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+
6 "	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+
7 "	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+
8 "	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+
9 "	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+
10 "	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+

(Fortsetzung.)

	Alkohol 1 Proz.	5 Proz.	10 Proz.	15 Proz.	20 Proz.	25 Proz.	30 Proz.
5 Std.	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	—
1 Tag	+	+	+	+	+	—	—
2 Tage	+	+	—	—	—	—	—
3 „	+	—	—	—	—	—	—
4 „	+	—	—	—	—	—	—

	Alkohol 68 Prozent	69 Prozent	70 Prozent	71 Prozent	72 Prozent
5 Sek.	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+
15 „	+	+	+	+	+
20 „	+	+	+	+	+
25 „	+	+	+	+	+
30 „	+	+	—	+	+
40 „	+	+	—	+	+
60 „	+	(+)	—	+	+
80 „	+	—	—	+	+
100 „	—	—	—	—	+
120 „	—	—	—	—	+
140 „	—	—	—	—	+
180 „	—	—	—	—	+

Die vorstehenden Tabellen illustrieren sehr deutlich die Wirkung der verschiedenen Alkoholkonzentrationen. Meine Angaben stehen im Widerspruch mit den meisten von anderen Autoren angegebenen Ergebnissen und ich selbst war, nachdem ich etwa 3 Monate nur mit den Alkoholverdünnungen gearbeitet hatte, noch nicht zu eindeutigen Resultaten gekommen, in dem zwar die jedesmal angelegten Kontrollversuche die gleichen Werte ergaben, aber schon zwei in gleicher Weise an verschiedenen Tagen angestellten Versuche wesentliche Differenzen zeigten.

Die Übertragung der Fäden aus dem Alkohol in die Bouillon konnte ich nicht auf schräg gehaltene Röhrchen vornehmen. Bei einem zu diesem Zweck angestellten Versuche mit 75prozentigem Alkohol entnahm ich einen Faden und legte ihn dann auf ein steriles Petrischälchen, während ich einen zweiten sofort danach in Bouillon übertrug, dann erst brachte ich auch den 2. Faden in Bouillon. Der zuerst entnommene Faden war steril, während der zweite, der dort etwa 20 Sekunden länger dem Alkohol ausgesetzt war, Wachstum am 2. Tage zeigte. Ich mußte mich also

entschließen, die Übertragung auf senkrecht gehaltene Röhrchen vorzunehmen, auch auf die Gefahr hin, dabei Keime aus der Luft als Verunreinigung zu bekommen. Die Übertragung ließ sich auf diese Weise in kürzester Zeit bewerkstelligen; ich entnahm den Faden mit einer sterilen Pinzette, die ich zwischen Daumen und Zeigefinger hielt, entfernte mit dem Mittelfinger und Daumenballen den Wattebausch, schlug mit der geöffneten Pinzette leicht auf den Rand des Reagensglases, so daß der Faden abfiel, und schloß dann das Röhrchen sofort wieder. Ich gebrauchte auf diese Weise wenige Sekunden zu der Übertragung und habe in keiner einzigen Röhre, trotzdem ich mehrere Tausend auf diese Weise beschickte, Verunreinigung gesehen. Die Röhrchen, die in der Zeit den steril bleibenden Röhrchen vorausgingen, prüfte ich wiederholt durch Übertragung auf Blutagar auf Staphylokokken. Der mit der Pinzette gehaltene Faden fiel durch den Anschlag sofort senkrecht in das Röhrchen und ging sofort in der Bouillon unter. Der Wattepfropfen berührte nur an den oberen Enden den Daumenballen und die Spitze des Mittelfingers, mit der anderen Hand hielt ich das Reagensglas. Diese Methode, die allerdings im Anfang einige Nachteile hat — der Faden wurde an die Seitenwand des Glases geschleudert und entfiel der etwas zu früh geöffneten Pinzette —, hat sich nach einiger Übung ganz vorzüglich bewährt, und ich habe auf diese Weise Fäden aus Jodtinktur nach 5 Sekunden übertragen können.

Eine weitere Schwierigkeit lag in der schnellen Verdunstung des Alkohols. Ich mußte zunächst Gläser mit möglichst kleiner Oberfläche wählen und sodann möglichst viel Alkohol verwenden, um den bei längerem Gebrauch entstehenden Fehler nach Möglichkeit zu verkleinern. Ich verwandte also hohe Glasdosen mit möglichst kleinem Durchmesser und stets mindestens 20 ^{ccm} Alkohol, so daß ich eine Flüssigkeitsschicht von etwa 3 ^{ccm} erhielt. Weiter bedeckte ich das Schälchen bei allen Versuchen, die sich auf länger als 10 Minuten ausdehnten, mit dem mit Vaseline bestrichenen Deckel. Die auf diese Art behandelten Schälchen enthielten nach 24 Stunden stets einen Alkohol, der an Desinfektionskraft nachweisbar nicht verloren hatte. Daß Schälchen, die Wassertröpfchen oder auch nur durch die Sterilisation am Deckel niedergeschlagenes Wasser enthielten, nicht verwendet wurden, ist nach dem Gesagten selbstverständlich. Zur Feststellung der um 1 Prozent zunehmenden Alkoholstärken gebrauchte ich große Alkoholmengen, da bei diesen Versuchen schon eine sehr geringe Konzentrationsänderung unzuverlässige Resultate ergeben hätte. Zudem gebrauchte ich zur Feststellung der Konzentration das Alkoholometer; es waren also bei Prüfung fünf verschiedener Stärken annähernd 3 Liter Alkohol erforderlich, aus denen ich nachher durch ein-



faches Zusammengießen unter leichter Korrektur 70prozentigen Alkohol herstellte, da die Konzentrationen 68 Prozent, 69 Prozent, 70 Prozent, 71 Prozent, 72 Prozent verwandt wurden. Um durch Verdunstung entstehende Fehler möglichst zu verkleinern, benutzte ich bei diesem Versuch je 100 ccm Alkohol.

	Alkohol				
	68 Prozent	69 Prozent	70 Prozent	71 Prozent	72 Prozent
5 Sekunden	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+
15 „	+	+	+	+	+
20 „	+	+	+	+	+
25 „	+	+	+	+	+
30 „	+	+	—	+	+
40 „	+	+	—	+	+
60 „	+	(+)	—	+	+
80 „	+	—	—	+	+
100 „	—	—	—	—	+
120 „	—	—	—	—	+
140 „	—	—	—	—	+
180 „	—	—	—	—	+

Bei der vorstehenden Tabelle fällt auf, daß die bakterizide Kraft in den Konzentrationen von 70 Prozent aufwärts zunächst sehr schnell abnimmt, während sie in den abfallenden Konzentrationen sich verhältnismäßig länger erhält. In den Konzentrationen unter 60 Prozent geht die Abnahme der Wirkung dann so schnell vor sich, wie sie bei keinem Desinfektionsmittel beobachtet ist. Während im allgemeinen die Wirkung, wenn auch nicht direkt, so doch wenigstens annähernd der Abnahme der Konzentrationen proportional ist, oder aber in multiplen Proportionen erfolgt, ergeben sich bei dem Alkohol ganz andere Werte. Es wirkt hier eben die Ausschaltung der Diffusion, denn diese halte ich für das hauptsächliche Moment, das die Alkoholwirkung ermöglicht. Vorher angeführte Beispiele haben gezeigt, daß bei feuchten Bakterien selbst bei absolutem Alkohol von einer bakteriziden Wirkung gesprochen werden kann. Diese Beobachtung ist auch von anderen Autoren gemacht worden. So erkläre ich mir auch die mir sonst unverständliche Erscheinung, daß z. B. die sonst sehr wirksame Karbolsäure im absoluten Alkohol ohne jede Wirkung ist. Ob die schlechte Wirkung der konzentrierten Karbolsäure mit 90prozentigem Phenolgehalt, die ja auch sehr hydroskopisch ist und den Bakterien das etwa noch vorhandene Wasser entzieht, auf diese Tatsache zurückzuführen ist, kann ich nicht entscheiden, da ich eingehende Versuche in dieser Richtung nicht unternommen habe; jedenfalls betont



R. Koch in seiner Arbeit „Über Desinfektion“, daß 5prozentige Karbolsäure in Alkohol ohne jede Wirkung sei, während die 5prozentige wässerige Lösung Milzbrandsporen in 2 Tagen abtötet. Die Wirkung des Acidum carbolicum liquefactum entspricht nach Krönig und Paul durchaus nicht den Erwartungen, die man von einem sonst so energisch wirkenden Stoff annehmen sollte. Die ungünstigen Resultate, die ich mit ätherischen Ölen in absolutem Alkohol gelöst hatte, schienen meine Ansicht zu bestätigen, da „Laubenheimer“ bei Lösungen in sulforizinolsaurem Kali oder dioxystearinsaurem Kali bedeutend günstigere Resultate zu verzeichnen hat. Der Versuch, diese Öle in verdünntem Alkohol zu verwenden, scheiterte teilweise an der Unmöglichkeit, hiermit stärkere Konzentrationen herzustellen.

Alkohol mit anderen Desinfektionsmitteln.

Mit **Chloroform, Äther, Benzol, Azeton, Glyzerin, Schwefelkohlenstoff** und **Petroleumäther** erhielt ich bei Staphylokokken folgende Resultate:

	Minuten					
	1	2	3	4	5	6
1. Chloroform	+	+	+	+	+	—
2. Äther	+	+	+	+	+	+
3. Benzol	+	+	+	+	+	+
4. Azeton	+	+	+	+	+	—
5. Glyzerin	+	+	+	+	+	+
6. Schwefelkohlenstoff	+	+	+	+	+	+
7. Petroleumäther	+	+	+	+	+	+

Ich untersuchte dann 70prozentigen Alkohol mit $^1/_3$ der Menge jeder der vorher aufgeführten Substanzen. Dabei blieb der Alkohol natürlich nicht 70prozentig, doch schien mir gerade eine derartige Verdünnung wünschenswert, um eine etwaige Steigerung der bakteriziden Kraft des Alkohols durch den Zusatz nachweisen zu können. Es folgen die Resultate:

	Minuten					
	1	2	3	4	5	6
Gemisch 1	+	+	+	+	—	—
„ 2	+	+	+	+	+	—
„ 3	+	+	+	+	+	+
„ 4	+	+	+	+	—	—
„ 5	+	+	+	+	+	+
„ 6	+	+	+	+	+	+
„ 7	+	+	+	+	+	+



Weitere Untersuchungen in anderen Konzentrationen ergaben noch bedeutend ungünstigere Resultate, so daß ich auf die Anführung der Tabelle verzichte.

Bei einer Lösung von **Kresolseife** in Alkohol erhielt ich folgende Resultate:

	Minuten								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Kresolseife 3 Prozent	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kresolseife 3 Proz. in 70 Proz. Alkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kresolseife 3 Proz. in 90 Proz. Alkohol	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kresolseife 5 Prozent	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Kresolseife 5 Proz. in 70 Proz. Alkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kresolseife 5 Proz. in 90 Proz. Alkohol	+	—	—	—	—	—	—	—	—

Nach der vorstehenden Tabelle scheint die bakterizide Kraft des Gemisches zwar die des reinen Alkohols zu verstärken, doch dürfte es bei der verhältnismäßig geringen Aufbesserung nicht ratsam sein, ein derartiges Gemisch in praxi zu verwenden.

Bemerkenswert erscheint mir folgender Versuch. Ich besorgte mir aus der Hofapotheke in Kiel ein aus 90prozentigem Alkohol mit 10 Prozent Zusatz von „Oleum odoratum“ hergestelltes „wohlriechendes Wasser“. Das Oleum odoratum besteht aus einem Gemisch von Ol. Menth. pip., Ol. Bergam., Ol. rosae, Ol. Citri, Ol. Caryoph., Ol. Carvi. Mit dieser **Eau de Cologne,** die also 90prozentigen Alkohol enthielt, bekam ich bei Staphylokokken günstige Resultate. Ich verdünnte dann das Gemisch mit Wasser und zwar so, daß ich die Gesamtmenge wie 90prozent. Alkohol behandelte, das heißt, bei der Verdünnung die durch den Ölzusatz bedingte Verminderung der Alkoholkonzentration unberücksichtigt ließ. In der folgenden Tabelle ist das verdünnte Gemisch mit „Eau“ 90 Prozent, das auf 80 Prozent und 70 Prozent verdünnte, entsprechend bezeichnet. Eine Trübung durch Ausfallen von Öl trat in diesen Verdünnungen nicht ein.

	Minuten									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Eau 90 Prozent . .	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
„ 80 „ . .	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
„ 70 „ . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Die Tabelle zeigt, daß dieses Gemisch dem einfachen Alkohol an bakterizider Kraft wesentlich überlegen ist und es schien mir

16*



der Mühe wert zu sein, **die einzelnen Öle** der Eau de Cologne auf ihre bakterizide Kraft ebenfalls in den entsprechenden Alkohollösungen zu prüfen. Auch bei diesen Versuchen machte ich den Fehler, daß ich nun zu dem entsprechenden Alkohol nicht 10 Prozent des zu untersuchenden Öles hinzusetzte, weil die einzelnen Öle erstens sehr teuer sind, und sodann dadurch jedes der Öle in ganz erheblich größerer Konzentration gewirkt hätte, als in der gekauften Eau de Cologne. Eine Auffüllung des zu untersuchenden Öles mit Olivenöl oder irgend einem anderen wenig bakteriziden Öl, schien mir im Vergleich zu der Kleinheit des entstehenden Fehlers nicht nötig zu sein, zumal sich auch bei dieser Versuchsanordnung jedes stark bakterizid wirkende Öl würde haben nachweisen lassen. Die folgende Tabelle gibt die erhaltenen Resultate. Dabei benutzte ich 80prozentigen Alkohol, weil dieser mir ermöglichte, mit bequemen Zeiten zu arbeiten. In der Tabelle versteht sich bei Aufführung des Öles immer die Lösung in 80prozentigem Alkohol; dabei richtet sich die Menge des Öles genau nach dem auf dem Rezept angeführten Prozentgehalt.

	Minuten								
	1	2	3	4	5	6	7	10	15
Oleum Menth. pip.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Bergam.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Rosae	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Citri	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Carvi	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Caryopholl.	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Nach dem unerwarteten Ausfall dieses Versuches mischte ich mir gemäß der Rezeptvorschrift das Oleum odoratum und stellte mir so die Eau de Cologne selbst her. Das Resultat ergab bei 80 Prozent und 90 Prozent nach 20 Minuten keine Sterilität. Meine Vermutung, daß mir in der Apotheke die Zusammensetzung falsch angegeben sei, bestätigte sich nicht, doch wurde mir dort gesagt, daß ähnliche Resultate bereits von verschiedenen Apothekern beobachtet seien; die bakterizide Kraft derartiger Gemische entwickele sich mit dem Alter und nähme dementsprechend zu. Ich vermag nicht zu entscheiden, ob bereits etwas über diese Beobachtung in irgend einer Zeitschrift erschienen ist, jedenfalls war es mir unmöglich, irgend eine darauf bezügliche Bemerkung zu finden.

Zur Prüfung **anderer ätherischer Öle** stellte ich mir folgende Verdünnungen her:

1. 9·0 ccm absoluten Alkohol 1·0 ccm Öl,
2. 9·2 „ „ „ 0·8 „ „
3. 9·4 „ „ „ 0·6 „ „
4. 9·6 „ „ „ 0·4 „ „
5. 9·8 „ „ „ 0·2 „ „

In den nachfolgenden Tabellen bezeichnen die Nummern die entsprechenden Konzentrationen des Öles. Die Ölmengen wurden mit einer Pipette abgemessen. Die geringen Fehler, auf die ich bei dem Arbeiten mit Eau de Cologne aufmerksam machte, habe ich auch hier nicht ohne sehr große Umstände vermeiden können. Ich löste das Terpentinöl in absolutem Alkohol, weil ich eine starke bakterizide Wirkung vermutete. Koch hat in reinem Terpentinöl schon am 5. Tage Abtötung von Milzbrandsporen beobachtet. Er sagt in seiner Arbeit „Über Desinfektion“: „Dennoch möchte ich die Hoffnung nicht aufgeben, daß sich das Terpentinöl in irgend einer Form, vielleicht in Kombination mit trockener oder feuchter Hitze als Desinfektionsmittel verwerten lassen wird, und ich beabsichtige gelegentlich, die Versuche mit diesem Mittel wieder aufzunehmen.“ Mit Senföl in Wasser war er imstande, in 10 Tagen Entwicklungshemmung nachzuweisen, eine Tatsache, die für die Wirksamkeit des Senföles spricht, wenn man berücksichtigt, daß dieses Öl in Wasser unlöslich ist; über das Verhältnis der Mischung und über die Art, wie er die Sporen dem Senföl aussetzte, sind in der Arbeit keine Angaben vorhanden. Ich untersuchte außer Terpentinöl und Senföl, Zimtöl, Zitronenöl und Menthol. Es folgen die Tabellen mit den oben angegebenen Bezeichnungen.

Terpentinöl.

	Minuten										
	1	2	3	4	5	6	10	15	20	25	30
Gemisch 1 . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 2 . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 3 . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 4 . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 5 . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Senföl.

	Minuten										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Gemisch 1 . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 2 . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 3 . .	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 4 . .	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 5 . .	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—

Zimtöl.

	Minuten												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	15	20	30
Gemisch 1 . . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 2 . . .	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 3 . . .	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 4 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
„ 5 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—

Zitronenöl.

	Minuten										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20
Gemisch 1 . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„ 2 . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 3 . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 4 . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 5 . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Menthol.

	Minuten								
	1	2	3	4	5	10	15	20	25
Gemisch 1 . . .	+	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 2 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„ 3 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 4 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 5 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Untersuchungen der verschiedenen ätherischen Öle schienen mir für die Praxis sehr schlecht verwendbare Resultate zu geben; ganz abgesehen von dem sehr hohen Preis der Öle ist die Wirkung bei den meisten gegenüber anderen Desinfektionsmitteln eine ganz minimale. Senföl und Zimtöl zeigen eine verhältnismäßig gute Wirkung, doch schließt der sehr stechende und die Schleimhäute reizende Geruch eine Anwendung in der Praxis wohl ganz aus, zumal auch hier der Preis in gar keinem Verhältnis zu der Wirkung steht.

Laubenheimer hat mit 1prozentigen Lösungen verschiedener ätherischer Öle in sulforizinolsaurem Kali folgende Ergebnisse gehabt, die mit meinen Resultaten zwar vergleichbar sind, aber einen Schluß auf eine etwaige Differenz, die durch die verschiedenen Lösungsmittel bedingt wäre, bei der Verschiedenartigkeit der Versuchsanordnung nicht gestatten. 1prozentiges Senföl in sulforizinolsaurem Kali vermag in 6 Minuten sämtliche Staphylokokken abzutöten.

1 Prozent Terpentinöl benötigt hierzu 4 bis 5 Stunden, 1 Prozent Terpinöl 5 Stunden, 1 Prozent Zimtöl 20 Minuten. Sandelholzöl ist in 7 Stunden nicht imstande, Staphylokokken abzutöten. Eukalyptol erzielt in 6 Stunden Keimfreiheit, Menthol hat eine gleich starke Wirkung und Kampfer vermag in 7 Stunden keine Sterilität zu erzeugen.

Bei Versuchen mit Karbolsäure, Lysol und Kresolseifenlösung fand ich gegenüber der Lösung in Wasser bei **Karbolsäure** Resultate, die mich von weiteren Versuchen mit derselben abstehen ließen.

Karbolsäure 1 Prozent.

	Minuten											
	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30	35	40
in Aqua . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 90proz. Alk.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Laubenheimer hat, wie ich erst nachträglich ersehen konnte, mit Staphylokokken erst in 80 bis 90 Minuten Sterilität bekommen. Eine viel bessere Wirkung zeigte **Lysol** und **Kresolseife.**

Lysol 3 Prozent.

	Minuten								
	1	5	10	15	20	25	30	35	40
in Aqua	+	—	—	—	—	—	—	—	—
in 90 prozent. Alkohol . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kresolseifenlösung 3 Prozent.									
in Aqua	+	—	—	—	—	—	—	—	—
in 90 prozent. Alkohol . . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Kresol 5 Prozent.									
in Aqua	+	—	—	—	—	—	—	—	—
in 90 prozent. Alkohol . . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—

Die vorstehenden Tabellen sind leider nicht geeignet, ein klares Bild über die Wirkung des Kresols in Alkohol abzugeben. Das Lysol scheint im Alkohol eine erhöhte Kraft zu besitzen. Ich habe davon abgesehen, nach diesen Resultaten weitere Versuche mit diesen Stoffen anzustellen, da sie mir in ihrer Wirkung nicht energisch genug erschienen.

Ungeahnt günstige Resultate erzielte ich mit **Jodtinktur.** Die gewöhnliche käufliche Jodtinktur zeigte eine so energische Wirkung, daß deren Intensität an Staphylokokken nicht zu prüfen war.



Jodtinktur.

	10 Prozent	8 Prozent	6 Prozent	4 Prozent	2 Prozent
5 Sek.	—	—	—	—	+
10 „	—	—	—	—	—
15 „	—	—	—	—	—
20 „	—	—	—	—	—
25 „	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—
35 „	—	—	—	—	—
40 „	—	—	—	—	—

Der zur Lösung des Jod benutzte Alkohol war 90 prozentig.

Jodtinktur in 70 prozentigem Alkohol.

	Sekunden							
	5	10	15	20	25	30	35	40
3 Prozent.	—	—	—	—	—	—	—	—
2 „	—	—	—	—	—	—	—	—
1 „	—	—	—	—	—	—	—	—

70 prozentiger Alkohol.
10 ccm mit Zusatz von Jodtinktur tropfenweise.

	Sekunden							
	5	10	15	20	25	30	35	40
2 Tropfen	+	+	+	—	—	—	—	—
4 „	—	(+)	—	—	—	—	—	—
6 „	—	—	—	—	—	—	—	—
8 „	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—	—	—
14 „	—	—	—	—	—	—	—	—
20 „	—	—	—	—	—	—	—	—

Die in obenstehender Tabelle angeführten Werte können nicht den Anspruch auf unbedingte Sicherheit machen, wie schon der Umstand beweist, daß in der 2. Reihe beim Zusatz von 4 Tropfen und einer Dauer von 10 Sekunden, wo bei sicherer Wirkung unbedingt Sterilität eintreten müßte, Staphylokokkenwachstum eintrat, wie ich auf Blutagar nachweisen konnte. In drei anderen in gleicher Weise angestellten Versuchen war dies Röhrchen steril. Ich glaube, daß in dem genannten Falle durch irgend welche mechanischen Umstände das Eindringen der Jodtinktur verhindert war und daß die Tabelle trotz dieses Fehlers zur Genüge die Desinfektionskraft der Jodtinktur zeigt.



Dieselbe Versuchsanordnung benutzte ich zur Prüfung der Desinfektionskraft der dekolorierten Jodtinktur. Dieses Präparat ist durch Filtrieren mit Tierkohle entfärbt und soll dieselbe Menge Jod enthalten.

Dekolorierte Jodtinktur (Alkohol 90 Prozent).

	10 Prozent	8 Prozent	6 Prozent	4 Prozent	2 Prozent
5 Sek.	—	—	—	+	+
10 „	—	—	—	—	+
15 „	—	—	—	—	—
20 „	—	—	—	—	—
25 „	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—
35 „	—	—	—	—	—
40 „	—	—	—	—	—

Dekolorierte Jodtinktur in 70 prozentigem Alkohol.

	Sekunden							
	5	10	15	20	25	30	35	40
3 Prozent.	—	—	—	—	—	—	—	—
2 „	+	—	—	—	—	—	—	—
1 „	+	+	+	—	—	—	—	—

10 ccm 70 prozent. Alkohol mit Zusatz von dekolorierter Jodtinktur in Tropfen.

	Sekunden							
	5	10	15	20	25	30	35	40
2 Tropfen	+	+	+	—	—	—	—	—
4 „	+	+	—	—	—	—	—	—
6 „	+	—	—	—	—	—	—	—
8 „	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—
12 „	+	—	—	—	—	—	—	—
14 „	—	—	—	—	—	—	—	—
20 „	—	—	—	—	—	—	—	—

Die Tabellen der mit dekolorierter Jodtinktur angestellten Versuche lassen schon hier eine gegenüber der nicht entfärbten Jodtinktur schwächere Wirkung erkennen. Dies würde ich bei der Ungenauigkeit der Versuche, wenn mit derartig kleinen Zeiten gearbeitet wird, nicht zu schließen gewagt haben, doch habe ich bei entsprechenden Versuchen mit Milzbrandsporen eine Bestätigung meiner Annahme gefunden. Wie erwähnt, gelang es mir nur durch die oben beschriebene Methode der Fadenübertragung



derartig kleine Zeiten innezuhalten. Ich legte natürlich jeden Faden einzeln in das Desinfektionsmittel, da sonst der Versuch überhaupt nicht durchführbar gewesen wäre. Bei Intervallen bis zu $^1/_2$ Minute legte ich gewöhnlich 7 Fäden zu gleicher Zeit ein und entnahm davon in dem gewünschten Zwischenraum. Bei einer Zeitdifferenz von 5 Sekunden tauchte ich einen Faden in der Jodlösung unter, öffnete dann die Pinzette, die ich mit den Spitzen in der Jodlösung ließ und nahm etwa 1 Sekunde vor Ablauf der 5 Sekunden den Faden wieder aus der Lösung. Immerhin sind auch bei dieser Methode große Fehler unvermeidlich, da eine Differenz von $^1/_2$ Sekunden schon $^1/_{10}$ der ganzen Einwirkungszeit ausmacht. Daß die Jodtinktur an der von der Pinzette gedrückten Stelle weniger intensiv wirkt, scheint mir wahrscheinlich, da diese Einwirkung etwa $^1/_3$ der ganzen Zeit beträgt. Günstig scheint es mir zu sein, daß die Jodtinktur wie ich unten zeigen werde, in der Bouillon unschädlich gemacht wird, doch behielten die Fäden noch längere Zeit ihre braune Farbe, so daß wenigstens ein Teil des Jod längere Zeit einwirken konnte. Bei den positiven Röhrchen fiel mir auf, daß die Trübung jedesmal erst am 2. Tage auftrat. Es scheint mir nicht unwahrscheinlich, daß auch in diesem Röhrchen der größte Teil der Staphylokokken vernichtet wurde und nur sehr wenig Keime am Leben blieben, so daß die Trübung erst später auftrat. Im Faden zurückbleibende Luftbläschen sind natürlich ebenfalls geeignet, falsche Resultate zu ergeben. Um die Wirkung der Jodtinktur gerade gegenüber Staphylokokken schärfer prüfen zu können, fügte ich zu je einem Bouillonröhrchen, das etwa 10 ccm Bouillon enthielt, tropfenweise Jodtinktur. Die Tabellen folgen:

10 ccm Bouillon mit Zusatz von Jodtinktur (tropfenweise).

	Minuten									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 Tropfen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$^1/_2$ ccm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Röhrchen wiesen selbst nach Zusatz von 2 ccm wohl Entfärbung, aber weder Niederschlag, oder auch nur eine Trübung auf, so daß ich das Jod in der Bouillon noch für wirksam hielt und mit dieser Bouillon vorstehende Desinfektionsversuche anstellte. Dabei ließ sich irgend eine Wirkung nicht nachweisen. Nun prüfte ich in gleicher Weise angesetzte Röhrchen auf Entwicklungshemmung. Es folgen die während einer Zeit von 8 Tagen gemachten Beobachtungen.

10 ccm Bouillon mit Zusatz von Jodtinktur zur Prüfung auf Entwicklungshemmung bei Staphylokokken:

1 Tr.	2 Tr.	3 Tr.	4 Tr.	5 Tr.	6 Tr.	7 Tr.	8 Tr.	9 Tr.
+	+	+	+	+	+	+	+	+

10 Tr.	11 Tr.	12 Tr.	13 Tr.	14 Tr.	15 Tr.	$^1/_2$ ccm	1 ccm	2 ccm
+	+	+	+	+	+	(+)	—	—

In dem Röhrchen, das $^1/_2$ ccm Jodtinktur enthielt, trat Wachstum am 2. Tage ein, während die beiden letzten Röhrchen steril blieben. Die ersten 15 Röhrchen nahmen die natürliche Farbe der Bouillon sofort bei dem Zusatz von Jodtinktur an. Röhrchen 15 war nach 10 Minuten von einem Bouillonröhrchen in der Farbe nicht mehr zu unterscheiden, hatte aber nach Zusatz der Jodtinktur ein gelbbraunes Aussehen. Die beiden letzten Röhrchen waren anfangs rotbraun, dann ging der Farbton ebenfalls in einen gelbbraunen, dann ockerfarbenen über. Nach diesem Resultat nahm ich die einzelnen Bestandteile der Bouillon und prüfte sie auf Veränderungen durch Jodtinkturzusatz. In Kochsalzlösung fiel die Jodtinktur als dunkelbrauner Niederschlag aus, Fleischwasser zeigte einen voluminösen, in der Konsistenz dem Silberchlorid gleichen, schokoladenbraunen Ausfall. Peptonwasser entfärbte die Jodtinktur ohne Niederschlag. Da ich die Lösungen in destilliertem Wasser hergestellt hatte, konnte nur ein farbloses, in Wasser lösliches Jodpepton entstanden sein. Durch vorsichtiges Titrieren setzte ich nun Jodtinktur bis zum Eintritt der Farbenveränderung der Bouillon zu. In einem zweiten Röhrchen wurde dieselbe Menge weniger zwei Tropfen hinzugefügt. Im ersten Röhrchen trat kein Wachstum auf, während das zweite am 3. Tage Trübung zeigte. *Übersteigt die Jodmenge das zur Sättigung nötige Pepton, so tritt schwache entwicklungshemmende doch keine desinfizierende Wirkung ein. Ein Staphylokokkenfaden, der 8 Tage in dem Röhrchen 13 gelegen hatte, wuchs bei Übertragung in Bouillon ohne nachweisbare Entwicklungshemmung.* Bei Zusatz mehrerer

Kubikzentimeter Jodtinktur fällt der überschüssige Teil des Jod aus. Ein der Alkoholkonzentration entsprechender Teil bleibt in der Lösung, durch diesen ist natürlich keine Abtötung zu erzielen, da Jod in schwachem Alkohol sehr wenig löslich ist. 90prozentiger Alkohol löst 10 Prozent Jod sehr leicht, während 70prozentiger Alkohol beispielsweise nicht einmal 4 Prozent Jod zu lösen vermag.

Ich glaubte aus vorstehenden Untersuchungen das Recht herleiten zu dürfen, ohne Anwendung von Spülflüssigkeit (ich benutzte anfangs absoluten Alkohol, gegen den ja seiner bakteriziden Unwirksamkeit wegen keine Bedenken vorliegen) die mit Jodtinktur behandelten Fäden in Bouillon zu übertragen, und bekam bei Benutzung von Alkohol als Spülflüssigkeit bei Staphylokokken auch dieselben Resultate, wie wenn ich die Fäden direkt in Bouillon übertrug. Spätere Untersuchungen mit Milzbrandsporen zeigten allerdings, daß ein beträchtlicher Teil der Jodtinktur bei Übertragen in die Bouillon noch wirksam blieb, indem in absolutem Alkohol gespülte Fäden erst nach 11 Minuten Sterilität zeigten, während sofort in Bouillon übertragene angetrocknete Kulturen schon nach 1 Minute kein Wachstum mehr zeigten. Bei der Milzbranddesinfektion folgen nähere Angaben hierüber. Bei Staphylokokkendesinfektion hielt ich an der sofortigen Übertragung in Bouillon fest, weil schon in 5 Sekunden auch nach Waschung mit absolutem Abkohol Abtötung eingetreten war.

10 ccm Alkohol (75 prozentig) mit Zusatz von Jodtinktur tropfenweise.

	30 Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	4 Min.	5 Min.
4 Tropfen	—	—	—	—	—	—
8 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—
16 „	—	—	—	—	—	—

10 ccm Alkohol (80 prozentig) mit Zusatz von Jodtinktur tropfenweise.

	30 Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	4 Min.	5 Min.
4 Tropfen	—	—	—	—	—	—
8 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—
16 „	—	—	—	—	—	—

10 ccm Alkohol (85 prozentig) mit Zusatz von Jodtinktur tropfenweise.

	30 Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	4 Min.	5 Min.
4 Tropfen	—	—	—	—	—	—
8 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—
16 „	—	—	—	—	—	—



10 ccm Alkohol (94 prozentig) mit Zusatz von Jodtinktur tropfenweise.

	30 Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	4 Min.	5 Min.
4 Tropfen	—	—	—	—	—	—
8 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—
16 „	—	—	—	—	—	—

10 ccm Alkohol (75 prozentig) mit Zusatz von dekolorierter Jodtinktur tropfenweise.

	30 Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	4 Min.	5 Min.
4 Tropfen	—	—	—	—	—	—
8 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—
16 „	—	—	—	—	—	—

10 ccm Alkohol (80 prozentig) mit Zusatz von dekolorierter Jodtinktur tropfenweise.

	30 Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	4 Min.	5 Min.
4 Tropfen	—	—	—	—	—	—
8 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—
16 „	—	—	—	—	—	—

10 ccm Alkohol (85 prozentig) mit Zusatz von dekolorierter Jodtinktur tropfenweise.

	30 Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	4 Min.	5 Min.
4 Tropfen	—	—	—	—	—	—
8 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—
16 „	—	—	—	—	—	—

10 ccm Alkohol (94 prozentig) mit Zusatz von dekolorierter Jodtinktur tropfenweise.

	30 Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	4 Min.	5 Min.
4 Tropfen	—	—	—	—	—	—
8 „	—	—	—	—	—	—
12 „	—	—	—	—	—	—
16 „	—	—	—	—	—	—

Staphylokokkeneiter, an Stückchen einer alten Serviette angetrocknet, zeigte sich sehr wenig widerstandsfähig.

10 ccm 70 prozentigen Alkohols mit Jodtinkturzusatz.

	15 Sek.	20 Sek.	25 Sek.	30 Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	4 Min.
2 Tropfen Jodtinktur	—	—	—	—	—	—	—	—
4 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—
6 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—
8 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—

Sechs Kontrollröhrchen mit nicht desinfizierten Serviettestückchen zeigten schon nach 12 Stunden starke Trübung.

Versuche mit Staphylokokkenkulturen, in Bouillon aufgeschwemmt und an Wildlederstückchen angetrocknet, ergaben folgende Werte:

Alkohol (70 prozentig).

	15 Sek.	30 Sek.	45 Sek.	60 Sek.	2 Min.	3 Min.	4 Min.	5 Min.
10 ccm Alkohol 70 proz.	+	+	+	—	—	—	—	—
„ „ „ 4 Tropfen Jodtinktur	+	—	—	—	—	—	—	—
„ „ „ 8 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ „ 1/4 proz. Chlormetakresol	+	+	—	—	—	—	—	—
„ „ „ 1/2 „ „	+	—	—	—	—	—	—	—
„ „ „ 1 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—

Das Wachstum war bei den mit + bezeichneten Röhrchen am 2. Tage stark positiv, während am 1. Tage keine Trübung festzustellen war. Es scheint mir daher eine teilweise Abtötung der Keime auch in den positiven Röhren erfolgt zu sein, da eine Wachstumshemmung durch die mit dem Faden übertragene Jodmenge ausgeschlossen ist.

In 1 ccm Jodtinktur sind 0·1 grm Jod gelöst, dann entsteht also in dem zu den Versuchen gebrauchten Alkohol eine 0·12 prozentige Jodlösung und beim Zusatz von acht Tropfen eine 1/4 prozentige Jodlösung. Diese Lösung ist imstande, die behandelten Keime in 15 Sekunden abzutöten und entspricht in der Wirkung einer 4 mal stärkeren Chlormetakresollösung.

Bei den Versuchen mit Milzbrandsporen verschiebt sich dieses Verhältnis noch ganz bedeutend zugunsten des Jod. Die in der vorigen Tabelle angeführten Resultate nach 15 Sekunden während der Einwirkung des Desinfiziens möchte ich für die Beurteilung der desinfizierenden Kraft nur bedingt verwerten.

Mit 1 Promille wässerigem Sublimat erzielte ich in 5 Minuten keine Sterilität, mit 1 Promille Sublimat in absolutem Alkohol ebenfalls nicht. Versuche mit Hydragyrum oxycyanatum lieferten in derselben Stärke keine besseren Resultate.

Aus diesen Tabellen geht die starke bakterizide Kraft des gelösten Jods hervor. Ein Unterschied zwischen gewöhnlicher Jodtinktur und dem entfärbten Präparat ist in diesem Falle nicht festzustellen.

Die Untersuchung beider Präparate ergibt bei Desinfektion von Milzbrandsporen wesentliche Differenzen.



Farbloses Jod unter dem Namen **Jothion** ist von den Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co. hergestellt und enthält 80 Prozent Jod. Es ist ein Jodwasserstoffsäureester-Dijodhydroxypropan, löslich in Ölen, Alkohol und den üblichen organischen Solventien. Das Jod ist organisch gebunden und wird nach Wesenbergs Untersuchungen zu 50 Prozent absorbiert. Eine Stunde nach der Aufpinselung tritt im Harn und Speichel Jodid auf, durch Nitrit und Schwefelsäure nachweisbar.

In der „Heilkunde“ schreibt Dr. Bruno Müller über die Anwendung in der chirurgischen und frauenärztlichen Praxis: „daß Jothion meiner Ansicht nach die anderen Jodpräparate bei weitem übertrifft und überflügelt.“

Meine Desinfektionsversuche ergaben folgendes: Jothion wird durch Pepton nicht gebunden und vermag schon bei Zusatz von zwei Tropfen zu 10 ccm Bouillon Entwicklungshemmung hervorzurufen.

Gesättigte Lösung in Bouillon.

	Minuten									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
14. XII.	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
16. XII.	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—

Ich unternahm den Versuch 6mal, weil ich gleich bei dem ersten Versuch (ich pflegte stets Kontrollen anzulegen) verschiedene Werte bekam. Das Wachstum erfolgte in den beiden positiven Röhrchen „7“ am 2. Tage. Ein derartiges Ergebnis scheint mir durchaus noch nicht auf Unsicherheit in der Wirkung eines Desinfektionsmittels schließen zu lassen, denn ganz abgesehen davon, daß die Übertragung wohl stets derartige Schwankungen wird hervorrufen können, und daß die bei den Versuchen mit Jodtinktur angeführten Umstände eintreten können, ist ja auch der Fall denkbar, daß die Zeit der Abtötung gerade auf der Grenze zwischen 6 und 7 Minuten liegt, so daß in diesem hypothetischen Fall selbst bei der größten praktisch erreichbaren Genauigkeit ein derartiges Resultat entstehen kann.

In Alkohol hatte ich folgende Resultate:

Absoluter Alkohol.

	Minuten						
	1	2	3	4	5	6	7
Jothion 1 Prozent . .	+	+	—	—	—	—	—
„ 2 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 3 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 4 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 5 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 6 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
96 prozentiger Alkohol.							
Jothion 1 Prozent . .	+	+	—	—	—	—	—
„ 2 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 3 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 4 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 5 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 6 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
90 prozentiger Alkohol.							
Jothion 1 Prozent . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 2 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 3 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 4 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 5 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
„ 6 „ . .	—	—	—	—	—	—	—

Auf Grund dieser und vor allen Dingen der mit Milzbrandsporen gefundenen Resultate, kann ich mich der Ansicht, daß das Jothion in bakterizider Hinsicht die anderen Jodpräparate übertreffe, nicht anschließen, trotzdem es zweifelsohne eine starke bakterizide Kraft besitzt und den Vorzug der Löslichkeit in verschiedenen organischen Solventien hat.

Die Wirkung der Jodpräparate scheint mir auf einer chemischen Bindung bakterieller Stoffe zu beruhen, dementsprechend wird eine möglichst labile Jodverbindung, die bei Berührung mit bakteriellen Stoffen durch die größere Affinität zu diesen gesprengt wird, das ideale Joddesinfiziens sein. Hieraus leitete sich auch meine Hoffnung her, in dem Jodpepton ein Desinfektionsmittel zu finden, doch war es mir durch Zusatz von Chemikalien nicht möglich, das Pepton frei zu machen. Daß das schnelle Übergehen der dunkelbraunen Jodtinktur in eine hellere Farbe beim Aufpinseln auf die Haut auf dem Entstehen einer Jodverbindung beruht, scheint mir nach dem Gesagten wahrscheinlich. Auf die Wirkungsweise der Jodpräparate auf Milzbrandsporen werde ich unten eingehen.



Kurz vor Abschluß meiner Untersuchungen hörte ich von Desinfektionsversuchen mit **Chlormetakresol.** Das Präparat, „Eusapyl" genannt, stellt eine wässerige Lösung von gleichen Teilen Chlormetakresol und rezinolsaurem Kali dar.

Laubenheimer hat eingehende Untersuchungen mit derartigen Präparaten unternommen. Vor Laubenheimer haben schon Bechhold und Ehrlich auf die Erhöhung der Desinfektionswirkung durch Einführung von Halogen hingewiesen.

Es folgen meine Versuche, die auch bei anderer Versuchsanordnung die günstigen Resultate Laubenheimers bestätigen und in den Resultaten mit den in der Doktordissertation von Tsuruga Okada angegebenen Zahlen gut vereinbar sind.

Staphylokokken-Versuch.

Chlormetakresol im Leitungswasser.

	15 Sek.	30 Sek.	45 Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	4 Min.
1/4 Prozent . .	+	+	+	+	—	—	—
1/2 " . .	±	+	—	—	—	—	—
1 " . .	(+)	—	—	—	—	—	—
2 " . .	—	—	—	—	—	—	—

Zu den Versuchen ist zu bemerken, daß 1 ccm des Präparates 1/2 ccm Chlormetakresol und 1/2 ccm rizinolsaures Kali enthält. Laubenheimer hat gezeigt, daß mit dem Steigen des Prozentgehaltes an rizinolsaurem Kali die bakterizide Kraft abnimmt.

Chlormetakresol und rizinolsaures Kali zu gleichen Teilen 0,25 prozentig tötet an Granaten angetrocknete Staphylokokken in 1 Minute, während 0,25 ccm Chlormetakresol mit 1 ccm rizinolsaurem Kali erst in 15 Minuten Sterilität erzeugt. Bei meinen Versuchen war die 1 prozent. Chlormetakresollösung nach 15 Sekunden in einem Falle positiv, im zweiten Falle steril; doch erkläre ich diese Erscheinung wie oben durch mechanische Hindernisse, zumal da ein als Kontrolle angesetzter dritter Versuch in diesem Röhrchen ebenfalls Sterilität ergab.

Chlormetakresol in 94 prozentigem Alkohol.

	15 Sek.	30 Sek.	45 Sek.	60 Sek.	2 Min.	3 Min.	4 Min.
1/4 Prozent . . .	+	+	—	—	—	—	—
1/2 " . .	+	—	—	—	—	—	—
1 " . .	—	—	—	—	—	—	—
2 " . .	—	—	—	—	—	—	—



Chlormetakresol in 70 prozentigem Alkohol.

	15 Sek.	30 Sek.	45 Sek.	60 Sek.	2 Min.	3 Min.	4 Min.
1/4 Prozent . .	—	—	—	—	—	—	—
1/2 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
1 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
2 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
Chlormetakresol in 50 prozentigem Alkohol.							
1/4 Prozent . .	+	—	—	—	—	—	—
1/2 „ . .	+	—	—	—	—	—	—
1 „ . .	—	—	—	—	—	—	—
2 „ . .	—	—	—	—	—	—	—

Auf Wachstumshemmung habe ich das Chlormetakresol nicht geprüft. Auf die Resultate bei der Händedesinfektion und die Desinfektionsversuche mit Milzbrandsporen werde ich weiter unten eingehen.

II. Versuche mit Milzbrandsporen.

Ich benutzte zu diesen Versuchen an Seidenfäden angetrocknete, 48 Stunden alte Agarkulturen in physiologischer Kochsalzaufschwemmung.

Milzbrandsporen.

	10 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	2 Std.	3 Std.	4 Std.
in abs. Alkohol	+	+	+	+	+	+	+
„ Alkohol 70 prozent. . .	+	+	+	+	+	+	+
„ Benzol	+	+	+	+	+	+	+
„ Äther	+	+	+	+	+	+	+
„ Azeton	+	+	+	+	+	+	+
„ Terpentinöl	+	+	+	+	+	+	+
Terpentinöl in 10 ccm 90 prozent. Alkohol gelöst:							
Ol. Ter. 0·2 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 0·4 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 0·6 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 0·8 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 1·0 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 1·2 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 1·5 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 2·0 : 10	+	+	+	+	+	+	+
Chloroform	+	+	+	+	+	+	+
Chlorof. u. Alk. 70proz. aa	+	+	+	+	+	+	+
$Ca(OH)_2$	+	+	+	+	+	+	+
Schwefelsäure 1 Prozent in 70 prozent. Alkohol . .	+	+	+	+	+	+	+
Essigsaure Tonerde 3 Proz.	+	+	+	+	+	+	+

Senföl in 10 ccm 90 prozent. Alkohol gelöst:

	10 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	2 Std.	3 Std.	4 Std.
Senföl 0·2 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ 0·4 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ 0·6 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ 0·8 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ 1·0 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ 1·2 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ 1·5 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ 2·0 : 10	+	+	+	+	+	+	+
Ol. Menth. pip. in 10 ccm 90 prozent. Alkohol gelöst:							
Ol. Menthae. pip. 0·2 : 10 .	+	+	+	+	+	+	+
„ „ „ 0·4 : 10 .	+	+	+	+	+	+	+
„ „ „ 0·6 : 10 .	+	+	+	+	+	+	+
„ „ „ 0·8 : 10 .	+	+	+	+	+	+	+
„ „ „ 1·0 : 10	+	+	+	+	+	+	+
„ „ „ 1·2 : 10 .	+	+	+	+	+	+	+
„ „ „ 1·5 : 10 .	+	+	+	+	+	+	+
„ „ „ 2·0 : 10 .	+	+	+	+	+	+	+
Eau de Cologne	+	+	+	+	+	+	+
Jodtinktur	—	—	—	—	—	—	—
Dekolorierte Jodtinktur .	+	—	—	—	—	—	—
Jothion	+	+	+	—	—	—	—
Chlormetakresol, konzentr.	+	—	—	—	—	—	—

Durch diese Tastversuche beabsichtigte ich, die unbrauchbaren Desinfektionsmittel auszuschalten. Desinfektionsmittel, die rein oder doch in starken Konzentrationen keine Sterilität erzielten, schienen mir praktisch für die Milzbranddesinfektion unbrauchbar zu sein.

Von den vorstehenden Desinfektionsmitteln habe ich Jodtinktur, dekolorierte Jodtinktur, Jothion und Chlormetakresol eingehend untersucht.

Alkohol und Eau de Cologne prüfte ich gleich zu Anfang der Versuche auch mit Milzbrandsporen, so daß ich hier die Beobachtung länger ausdehnte.

70 prozentiger Alkohol vermochte Milzbrandsporen in 25 Tagen nicht zu vernichten, während **Eau de Cologne** am 25. Tage Sterilität in allen sechs beschickten Röhrchen zeigte.

Die Versuche, durch Zusatz von **Jodtinktur** Entwicklungshemmung der Milzbrandsporen herbeizuführen, führten zu denselben Resultaten, wie die Staphylokokkenversuche. Ich verzichte darauf, die Tabellen hier anzuführen und erwähne nur, daß beim Zusatz von 1 ccm zu 9 ccm Bouillon keine Wachstumshemmung zu bemerken war. Im übrigen verweise ich auf das bei den entsprechenden Staphylokokkenversuchen Gesagte. Bei den Versuchen mit Jodtinktur verfuhr ich folgendermaßen: Ich löste reines



Jod in dem zu untersuchenden Alkohol. Der Alkohol wurde mit einer Pipette abgemessen und das Jod auf der Analysenwage abgewogen. Ich untersuchte 90prozentigen und 70prozentigen Alkohol.

Jodtinktur in 90 prozent. Alkohol.

	Minuten									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 Prozent	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
4 „	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
5 „	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
6 „	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Aus dem Versuch ist zu ersehen, daß die Jodtinktur mit 7 Prozent bereits in 1 Minute Sterilität ergibt. Die Milzbrandfäden wurden sofort in die Bouillon übertragen. Bei Waschung in absolutem Alkohol, bei Waschung in sterilem Wasser und bei 5 Minuten langer Austrocknung erhielt ich wesentlich verschiedene Resultate.

Jodtinktur (10 prozentig).

Ich bezeichne:
die in absolutem Alkohol gewaschenen Fäden mit 1.,
die in Wasser gewaschenen Fäden mit 2.,
die sofort übertragenen Fäden mit 3.,
die in der Petrischale vor Übertragung in Bouillon getrockneten Fäden mit 4.

	Minuten									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
3.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	Minuten									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Die Tabelle ergibt, daß eine möglichst schnelle Entfernung des Jod nach der Desinfektion (Waschung mit absolutem Alkohol) ein sehr schlechtes Resultat ergibt. Waschung mit Wasser und Bouillon ist also nicht imstande, die Jodwirkung sofort auszuschalten, vielmehr besteht diese bis zur endgültigen Entfärbung der Fäden fort und es entsteht das Jodpepton sehr langsam, wie auch die etwa 10 Minuten beanspruchende Entfärbung der Bouillon bei größeren Mengen zugesetzter Jodtinktur zeigt. Ist die Bouillon einmal entfärbt, hat sie keine bakterizide Wirkung mehr und wirkt nur bei Farbdifferenzen, d. h. bei überschüssigem Jod entwicklungshemmend. Ich hielt während meiner Untersuchungen an der sofortigen Übertragung in Bouillon fest, weil dies der Praxis sehr zu entsprechen scheint, indem schon bei einfacher Jodpinselung das Jod bis zur Resorption auf der Haut bleibt und infolgedessen, analog dem Jod an den Fäden, lange wirken kann. Wesentlich für diese Untersuchungen scheint mir die Tatsache zu sein, daß das von der Bouillon gebundene Jod keine entwicklungshemmende Wirkung mehr hat.

Versuche mit **dekolorierter Jodtinktur.**

Für die Tabelle gelten die bei der vorigen Tabelle angegebenen Bezeichnungen.

	Minuten											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

	Minuten												
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
3.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Die Ergebnisse dieser Tabelle scheinen mir sehr interessant zu sein, indem sich daraus ergibt, daß die dekolorierte Jodtinktur an bakterizider Kraft der nicht entfärbten Jodtinktur erheblich nachstand. Weiter scheint mir der Ausfall des Versuches den Schluß zu erlauben, daß das Spülwasser eine baldige Vernichtung der Jodtinktur (Ausfall des reinen Jods) bewirkt, während die Bouillon die Wirksamkeit nicht sobald zu inhibieren vermag. An eine Wirksamkeit des entstehenden Jodpeptons vermag ich nach dem Ausfall der Desinfektionsversuche mit

Jod-Pepton und -Bouillon nicht zu glauben, so rätselhaft mir das Resultat der 3. Reihe auch ist.

Beide Tabellen scheinen mir einen erheblichen Fortschritt in der Abtötung der Milzbrandsporen zu bedeuten und ich werde die nächste Gelegenheit benutzen, das Jod in seiner bakteriziden Wirkung in anderen Solventien zu untersuchen.

Von den Untersuchungen der **Jothion**wirkung führe ich nur folgende Resultate an: Jothion erzielte auch in konzentrierter Lösung, d. h. bei etwa 80 Prozent Jod in 100 ccm Flüssigkeit in 30 Minuten bei Milzbrandsporen keine Sterilität, doch vermochten schon 4 Tropfen Jothion, die etwa 32 Tropfen Jodtinktur entsprechen würden, Entwicklungshemmung herbeizuführen. In meinen Versuchen hat sich die von Bruno Müller vertretene Ansicht, daß Jothion der Jodtinktur an bakterizider Kraft überlegen sei, nicht nachweisen lassen.

Milzbrandsporen in 70prozent., alkololischer **Chlormetakresol**lösung.

	Prozent									
	1/2	1	1 1/2	2	2 1/2	3	3 1/2	4	4 1/2	5
1 Minute								+	+	+
2 Minuten								+	+	+
3 „						+		+	+	+
4 „		+				+		+	+	+
5 „		+			+	+	+	+	+	+
6 „					+	+	+	+	+	+
7 „					+			+	+	+
8 „		+		+	+			+	+	+
9 „	+		+				+			
10 „	+		+			+	+			
11 „	+		+				+	+	+	+
12 „	+	+	+	+						
13 „		+	+							
14 „		+								
15 „	+	+		+				+	+	+
16 „	+	+		+	+	+		+		
17 „		+				+				
18 „		+		+	+					
19 „					+					
20 „	+	+	+			+	+			
25 „	+	+	+	+		+	+			
30 „	+	+	+	+	+		+			
35 „		+			+					
40 „	+			+	+					
45 „			+							
50 „	+		+							
60 „	+			+						
82 „	+		+							
27 Stunden	+									



Die vorstehende Tabelle ist nicht ganz vollständig, da, wie erwähnt, die Arbeit über „Phenol und seine Derivate" zu spät in meine Hände kam, doch glaube ich auch, aus der lückenhaften Tabelle schließen zu können, daß Chlormetakresol selbst in stärkeren Konzentrationen der Jodtinktur unterlegen ist. Da ich Abtötungsversuche mit Milzbrandsporen nur mit 10prozentiger Jodtinktur unternommen hatte, stellte ich einen Versuch mit entsprechenden Konzentrationen in 70prozentigem Alkohol an, und zwar benutzte ich bis zu 3 Prozent Jodgehalt 70prozent. Alkohol und verwandte bei den höheren Konzentrationen 90prozentigen Alkohol, da der 70prozentige derartig große Jodmengen nicht zu lösen vermag.

Jodtinktur.

	Prozent						
	1/4	1/2	1	2	3	4	5
1 Minute . .	+		+	+	+	+	
2 Minuten . .	+	+	+	+	+	+	
3 " . .	+	+	+	+	+	+	
4 " . .	+		+	+	+	+	
5 " . .	+	+		+	+	+	
6 " . .	+	+	+	+	+	—	
7 " . .				+	+	—	—
8 " . .		+	+	+	—	—	—
9 " . .	+	+	+	+	—		—
10 " . .	+	+	+	+	—		—
11 " . .	+			+			—
12 " . .		+		+		—	—
13 " . .	+	+				—	—
14 " . .	+	+			—	—	
15 " . .	+		+	+	—		
16 " . .		+	+	+	—		
17 " . .		+	+		—	—	
18 " . .	+				—	—	
19 " . .	+					—	
20 " . .						—	
25 " . .			—	—			
30 " . .			—	—			
35 " . .			—				
40 " . .	—	—		—			
45 " . .	—	—	—	—			
50 " . .	—			—			
55 " . .	—			—			

III. Händedesinfektion.

Nach allen Untersuchungen mit Jodtinktur scheint mir dieses Präparat ganz außerordentlich stark bakterizid zu wirken, und seine Anwendung zur Hautdesinfektion vor Operationen sehr geeignet zu sein, zumal die braune Färbung der Haut ein Vergessen der Desinfektion ganz ausschließt. Dekolorierte Jodtinktur habe ich ohne nachweisbare Schädigung zur Desinfektion meiner Hände nach Beendigung der Arbeit verwandt. Ich goß etwas von der 1 prozentigen Lösung in 70 prozentigem Alkohol in die hohle Hand und verrieb es dann über die Hände.

Ich benutzte zur Reinigung der Hände eine der gebräuchlichen Bürsten. Zur Übertragung der Keime benutzte ich sterile, in Bouillon liegende Wattekügelchen. Diese werden wie die Seidenfäden in 10 ccm Bouillon übertragen. Die Beobachtungsdauer erstreckte sich auf 8 Tage, trotzdem ich auch hier nach 3 Tagen niemals mehr Wachstum wahrgenommen habe.

1. Die trocknen Hände werden mit dem Wattekügelchen kräftig gerieben und diese dann in Bouillon übertragen:

	1. Tag	2. Tag	8. Tag
Handteller	+	+	+
Handrücken	+	+	+
1. Zwischenfingerraum	+	+	+
2. „	+	+	+
3. „	+	+	+
4. „	+	+	+
1. Nagelfalz	+	+	+
2. „	+	+	+
3. „	+	+	+
4. „	+	+	+
5. „	+	+	+
1. Unternagelraum	+	+	+
2. „	+	+	+
3. „	+	+	+
4. „	+	+	+
5. „	+	+	+

2. Dann wusch ich die andere Hand in fließendem heißen Wasser (50° C) 5 Minuten und impfte von dieser ab:

	1. Tag	2. Tag	8. Tag
Handteller	—	+	+
Handrücken	—	+	+
1. Zwischenfingerraum	—	+	+
2. „	+	+	+
3. „	—	+	+
4. „	—	+	+
1. Nagelfalz	—	—	+
2. „	—	+	+
3. „	+	+	+
4. „	+	+	+
5. „	—	+	+
1. Unternagelraum	+	+	+
2. „	+	+	+
3. „	—	+	+
4. „	—	+	+
5. „	—	+	+

Das 7. Röhrchen (Nagelfalz des Daumens) zeigte am 3. Tage Wachstum.



3. Waschung in 70 prozentigem Alkohol 1 Minute mit Bürste: Ich benutzte dazu die vorher nicht gereinigte Hand, von der ich in der ersten Tabelle abgeimpft hatte:

	1. Tag	2. Tag	8. Tag
Handteller	—	—	—
Handrücken	+	+	+
1. Zwischenfingerraum .	—	—	—
2. ,, .	—	—	—
3. ,, .	—	—	—
4. ,, .	—	—	—
1. Nagelfalz	—	—	—
2. ,, ...	+	+	+
3. ,, ...	—	—	—
4. ,, ...	—	—	—
5. ,, ...	—	—	+
1. Unternagelraum. . .	—	+	+
2. ,, . . .	—	+	+
3. ,, . . .	+	+	+
4. ,, . . .	—	+	+
5. ,, . . .	+	+	+

4. Nach 8 Tagen: Desinfektion einer Hand 3 Minuten mit 70 prozentigem Alkohol ohne vorherige Waschung. Das Bürsten beschränkte sich auf eine Hand:

	1. Tag	2. Tag	8. Tag
Handteller	—	—	—
Handrücken	—	—	—
1. Zwischenfingerraum .	—	—	—
2. ,, .	—	—	—
3. ,, .	—	—	—
4. ,, .	—	—	—
1. Nagelfalz	—	—	—
2. ,, ...	—	—	—
3. ,, ...	—	—	—
4. ,, ...	—	—	—
5. ,, ...	—	—	—
1. Unternagelraum. . .	—	—	—
2. ,, . . .	—	—	—
3. ,, . . .	—	+	+
4. ,, . . .	—	—	—
5. ,, . . .	—	—	—

5. Die andere Hand wurde ohne Waschung und Desinfektion wie auf Tabelle 1 abgeimpft und zeigte in allen Röhrchen Wachstum am 1. Tage. Desinfektion dieser Hand mit 70 proz. Alkohol 5 Minuten nach ganz kurzer Waschung mit heiß. Wasser u. Seife:

	1. Tag	2. Tag	8. Tag
Handteller	—	—	—
Handrücken	—	—	—
1. Zwischenfingerraum .	—	—	—
2. ,, .	—	—	—
3. ,, .	—	—	—
4. ,, .	—	—	—
1. Nagelfalz	—	—	—
2. ,, ...	—	—	—
3. ,, ...	—	—	—
4. ,, ...	—	—	—
5. ,, ...	—	—	—
1. Unternagelraum. . .	—	—	—
2. ,, . . .	—	—	—
3. ,, . . .	—	—	—
4. ,, . . .	—	—	—
5. ,, . . .	—	—	—

6. Waschen der Hand 3 Minuten mit 70 prozentigem Alkohol nach vorheriger Infektion mit Kulturen von Bacterium prodigiosum:

	1. Tag	2. Tag	8. Tag
Handteller	—	—	—
Handrücken	—	—	—
1. Zwischenfingerraum .	—	+	+
2. ,, .	—	—	—
3. ,, .	—	—	—
4. ,, .	—	—	—
1. Nagelfalz	—	—	—
2. ,, ...	—	—	—
3. ,, ...	—	—	—
4. ,, ...	—	—	—
5. ,, ...	—	—	—
1. Unternagelraum. . .	—	—	—
2. ,, . . .	—	—	—
3. ,, . . .	—	—	—
4. ,, . . .	—	—	—
5. ,, . . .	—	—	—

7. Waschen der Hände mit 70-prozentigem Alkohol 5 Minuten nach vorheriger Infektion mit Bacterium prodigiosum (die Kulturen wurden an die Hände angetrocknet).

	1. Tag	2. Tag	8. Tag
Handteller	—	—	—
Handrücken	—	—	—
1. Zwischenfingerraum	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
1. Nagelfalz	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
5. „	—	—	—
1. Unternagelraum	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
5. „	—	—	—

8. Desinfektion mit 70 prozent. Alkohol mit 0·25 Prozent Jodzusatz. Waschen der vorher nicht gereinigten Hände 3 Minuten lang mit Bürste. Es wurde nur eine Hand behandelt.

	1. Tag	2. Tag	8. Tag
Handteller	—	—	—
Handrücken	—	—	—
1. Zwischenfingerraum	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
1. Nagelfalz	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
5. „	—	—	—
1. Unternagelraum	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
5. „	—	—	—

9. Bürsten einer Hand 5 Min. lang mit 70 prozent. Alkohol ohne Reinigung mit Wasser. Von den Händen wurde erst 24 Stunden nach der Desinfektion abgeimpft. Auf die zu diesem Zwecke angewandte Methode komme ich noch zurück.

	1. Tag	2. Tag	8. Tag
Handteller	—	—	—
Handrücken	—	—	—
1. Zwischenfingerraum	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
1. Nagelfalz	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
5. „	—	—	—
1. Unternagelraum	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
5. „	—	—	—

10. Zu gleicher Zeit nahm ich an einem Freunde denselben Versuch nach vorheriger Reinigung der Hände mit warmem Wasser (5 Min. lang) vor.

	1. Tag	2. Tag	8. Tag
Handteller	—	—	—
Handrücken	—	—	—
1. Zwischenfingerraum	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
1. Nagelfalz	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
5. „	—	—	—
1. Unternagelraum	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
5. „	—	—	—

11. Desinfektion der vorher auf Wunden genau untersuchten Hand mit 1/4 prozentiger Jodtinktur 5 Minuten lang nach vorheriger Infektion mit Staphylokokken. Die Staphylokokken ließ ich in der Brutkammer 10 Minuten antrocknen.

Tabelle nach sofortigem Abimpfen der desinfizierten Hand.

	1. Tag	2. Tag	3. Tag
Handteller	—	—	—
Handrücken	—	—	—
1. Zwischenfingerraum .	—	—	—
2. „ .	—	—	—
3. „ .	—	—	—
4. „ .	—	—	—
1. Nagelfalz	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
5. „	—	—	—
1. Unternagelraum . .	—	—	—
2. „ . .	—	—	—
3. „ . .	—	—	—
4. „ . .	—	—	—
5. „ . .	—	—	—

12. Tabelle nach 24 Std. langer Wartezeit (Methode siehe unten):

	1. Tag	2. Tag	3. Tag
Handteller	—	—	—
Handrücken	—	—	—
1. Zwischenfingerraum .	—	—	—
2. „ .	—	—	—
3. „ .	—	—	—
4. „ .	—	—	—
1. Nagelfalz	—	—	—
2. „	—	—	—
3. „	—	—	—
4. „	—	—	—
5. „	—	—	—
1. Unternagelraum . .	—	—	—
2. „ . .	—	—	—
3. „ . .	—	—	—
4. „ . .	—	—	—
5. „ . .	—	—	—

Bei den ersten Versuchen entnahm ich aus dem sterilen Schälchen mit steriler Pinzette je ein mit Bouillon getränktes Wattekügelchen und übertrug es nach kräftigem Abreiben in ein steriles Bouillonröhrchen. Diese Methode erschien mir sehr einfach, doch ist gegen sie mit Recht der Einwand zu erheben, daß ein einfaches Abreiben der Hände noch durchaus nicht eine Sterilität der tieferen Hautschichten verbürge. Mir lag nun ganz besonders daran, bei meinen Versuchen eine **Methode** anzuwenden, die mir ermöglichte, die Keime auch in den tieferen Hautschichten nachzuweisen.

Laubenheimer führt in seiner Arbeit die verschiedenen zu diesem Zwecke angegebenen Methoden auf; es sei hier kurz darauf eingegangen. Die Händedesinfektion bildet ohne Frage eine der wichtigsten, zugleich aber auch eine der schwierigsten Aufgaben der Desinfektionspraxis, wie schon der Umstand beweist, daß immer neue Arbeiten und Angaben erscheinen, wie man die Keimfreiheit der Haut nachweisen könne.

Laubenheimer schreibt in seiner Habilitationsarbeit unter dem Kapitel „Untersuchungsmethode zur Prüfung von Händedesinfektionsmitteln“: „Die Untersuchungsmethoden zur Prüfung von Händedesin-



fektionsmitteln haben in letzter Zeit wesentliche Verbesserungen und Vervollkommnungen erfahren. Früher glaubte man sich damit begnügen zu können, aus dem Sterilbleiben eines Fingerabdruckes in einem festen Nährboden auf gelungene Desinfektion zu schließen (Kümmel, Förster). Die Mängel, die dieser Methode anhaften, liegen auf der Hand. Denn einmal werden gerade diejenigen Teile, welche die meisten Bakterien beherbergen und für Desinfektionsmittel am schwierigsten zugänglich sind, wie die Nagelfalze und Unternagelräume, nicht in die Untersuchung mit einbezogen, und ferner werden die in der Tiefe der Hautporen und -drüsen sitzenden Keime unberücksichtigt gelassen. Während aber die oberflächlich anhaftenden Bakterien verhältnismäßig leicht und häufig schon durch mechanische Manipulationen allein zu entfernen sind, sind die in der Tiefe wuchernden Keime für Desinfektionsmittel überaus schwer zugänglich.

Im Verlaufe einer Operation aber werden die oberflächlichen Schichten der Haut erweicht, die Schweißdrüsen treten durch den Einfluß der warmen Lösungen, Köperflüssigkeiten usw. in vermehrte Tätigkeit und bringen die tiefsitzenden, von den Desinfizientien unberührt gebliebenen Bakterien an die Oberfläche der Hände und damit in das Operationsgebiet.

Mit Recht wies daher Fürbringer darauf hin, daß eine Hand nur dann als keimfrei angesehen werden könne, wenn auch alle in der Tiefe sitzenden Keime abgetötet seien. Von diesem Gesichtspunkte ausgehend, verbesserte der genannte Autor die Prüfungsmethode dahin, daß nach der Desinfektion die Haut im warmen Wasserbad erweicht und energisch mechanisch bearbeitet wird, um die Verhältnisse einer länger dauernden Operation nachahmend, die versteckten Keime an die Oberfläche zu befördern. Hier erfolgt die Entnahme durch Abschaben mit sterilen Hölzchen oder Metallinstrumenten.

Schließlich ist noch die von Hägler angegebene Methode zu nennen, bei der Seidenfäden als Entnahmematerial zur Anwendung kommen. Seidenfäden werden zwischen den Handflächen und den Fingern hin und her gerieben, durch die Unternagelräume gezogen und auf Nährböden übertragen.

Die beste, mit den geringsten Fehlerquellen arbeitende Methode ist von Paul und Sarwey ausgearbeitet und in einer ganzen Reihe von Arbeiten als sehr zuverlässig erwiesen worden. Sie stellt eine bessere Modifikation der Fürbringerschen Versuchsanordnung dar."

Trotzdem ich mich bei der Händedesinfektion dieser Methode nicht bediente, mögen die Prinzipien derselben kurz erörtert werden.

1. „Jede nachträgliche Verunreinigung der desinfizierten Hände wird mit Sicherheit ausgeschlossen durch die Verwendung eines Kastens, welcher sämtliche zum Versuche notwendigen Gegenstände enthält und in welchem

die Prüfung der Hände vorgenommen wird. Die Sterilisation des Kastens samt Inhalt wird durch längeres Auskochen bewirkt."

2. „Die mit jeder chirurgischen Operation verbundene Aufweichung und mechanische Beeinflussung der Hände wird in mindestens gleich intensiver Weise durch längeres Waschen in heißen Wasserbädern, energisches Abscheuern mit Sand und Abschaben der mazerierten Haut mit dem scharfen Löffel erzielt. Diese Manipulationen werden auf die ganze Oberfläche beider Hände ausgedehnt."

3. „Die nach den einzelnen Versuchsabschnitten vorzunehmende Prüfung des Keimgehaltes der Hände geschieht mit sterilen harten Hölzchen und zum Schlusse mit dem scharfen Löffel. Das energische Abschaben mit dem Hölzchen und später mit dem scharfen Löffel erstreckt sich auf die Volar- und Dorsalseite beider Hände und aller Finger. Zum Schaben wird nicht nur die Hölzchenspitze, sondern auch, soweit nicht die Nagelfalze und Unternagelräume in Betracht kommen, das ganze Hölzchen verwendet. Die Hölzchen werden sodann in ein Probierglas mit 3 ccm sterilem Wasser geworfen, die anhaftenden Keime durch längeres Schütteln vom Hölzchen möglichst losgesprengt und im Wasser gleichmäßig verteilt. Dasselbe geschieht mit dem Epidermisstückchen, die mit dem scharfen Löffel abgeschabt wurden. Schließlich wird Wasser samt Hölzchen bzw. Epidermisstückchen mit verflüssigtem Agar-Agar gut vermischt und in Petrischalen ausgegossen."

Auf die Einzelheiten der Versuchstechnik und auf die Einrichtung des sterilen Kastens, in dem die Prüfung der desinfizierten Hände vorgenommen wird, gehe ich hier nicht näher ein. Eine ausführliche Beschreibung darüber findet sich in den verschiedenen Abhandlungen von Paul und Sarvey. Die auch von Laubenheimer angewandte Paul-Sarweysche Methode schien mir zunächst sehr umständlich zu sein und sodann wäre ja auch hier noch der Fall denkbar, daß Keime in der Tiefe der Haut sitzen blieben, sowie auch durch das Baden der Hände in Wasser und das Scheuern mit Sand, Keime in diese Substanzen übergingen und so nicht nachgewiesen würden. Ich hielt in den Versuchen 9, 10 und 12 **die Hand 24 Stunden lang in keimfreier Nährbouillon.**

Die mit dem alkoholischen Desinfektionsmittel behandelten Hände ließ ich, ohne zu reiben, unter einem sterilen Handtuch trocknen, um eine Infektion durch Luftkeime zu vermeiden. Nach völligem Trocknen goß ich 10 ccm steriler Bouillon darüber, die Bouillon wurde kräftig mit beiden Händen in die Haut eingerieben, doch wurde dabei genau darauf geachtet, daß nichts von der Bouillon über das Handgelenk hinausging, dann zog ich einen sterilen Gummihandschuh an,



dessen Finger mit Bouillon gefüllt waren. Über das obere Ende des Handschuhes, sowie über die angrenzenden Teile des Unterarms, der vorher auch desinfiziert war, wurde Traumatizin gepinselt. Ich nahm an, daß etwa in der Tiefe der Haut sitzende Keime die Bouillon in 24 Stunden sicher infizieren müßten, zumal die erwartete starke Mazeration in 24 Stunden in großem Umfange eingetreten war, den Handschuh behielt ich, sowie eine andere Versuchsperson, 24 Stunden lang auf der Hand. Irgendwelche Beschwerden hatten wir nicht. Die Dehnung der Handschuhfinger schwand allmählich, doch trocknete die Bouillon nicht völlig ein, der ganze Handschuh war leicht über der schleimigen Haut verschieblich, nach 24 Stunden zeigte die ganze Hand eine starke Zerklüftung und Mazeration, wie man es bei Waschfrauen nach tagelangem Waschen zu finden pflegt. Von den Bouillonresten wurde nun mit Wattekügelchen abgerieben; schon bei dieser Manipulation gingen größere Epidermisstückchen verloren. Mit einem sterilen Messer entfernte ich durch Schaben weitere größere Hautpartien, wischte sie auf die Wattekügelchen und übertrug diese in Bouillonröhrchen. Bei keinem der drei letzten angestellten Versuche konnte ich Keime nachweisen und glaube daraus schließen zu dürfen, daß **die Hände tatsächlich bis in die Tiefe der Hand keimfrei waren.** Schon nach etwa einer $^1/_2$ Stunde hatte die Haut die natürliche rote Farbe wieder angenommen und nach kurzem Einreiben mit Glyzerinalkohol, den ich mir für diesen Zweck herstellte, wurde die Haut wieder geschmeidig. Der Glyzerinalkohol 1prozentig schien mir übrigens wirksamer als Byrolin und das so viel gebrauchte Kaloderma zu sein. Um den Gebrauch etwas angenehmer zu machen, setzte ich wenig Bergamottöl hinzu. Diese Lösung machte die Hände nicht klebend und ließ sich ganz vorzüglich in die Haut einreiben. Um eine vielleicht mögliche Entwicklungshemmung neuer Keime an den Händen durch das Bergamottöl oder das Glyzerin auszuschließen, benutzte ich das Gemisch stets nur 2 Tage lang und nahm erst nach 5 weiteren Tagen die Versuche wieder auf.

Herstellung einer gewünschten Alkoholstärke.

Nicht jeder hat ein Alkoholometer zur Verfügung, auch benötigt ein solches große Alkoholmengen. Die folgende Tabelle wird deshalb manchem erwünscht sein, zumal da die Zusammenziehung das einfache Mischen von Alkohol und Wasser kompliziert. Zum Beispiel erhält man beim Mischen von 50 ccm absoluten Alkohols mit 50 ccm Wassers nicht 100·00 ccm, son-



dern nur 96·3 ^{ccm}, auch ändert sich die Größe der Zusammenziehung mit der Stärke des Alkohols recht wesentlich.

Stärke des vorhand. Alkohols		Gewünschte Alkoholstärke in Volumprozenten										
Volumprozent	Gewichtsprozent	50	55	60	65	70	75	76·7	80	85	90	95
55	47·29	90·91										
60	52·20	83·23	91·67									
65	57·20	76·92	84·62	90·77								
70	62·50	71·33	78·57	85·71	91·86							
75	67·93	66·67	73·49	80·00	88·13	93·33						
80	73·59	62·50	68·75	75·00	81·25	87·30	93·75	95·75				
85	79·50	58·82	64·75	70·59	76·47	82·35	88·24	88·71	94·12			
90	85·75	55·56	61·11	66·67	72·22	77·78	83·33	85·18	88·89	94·95		
94	91·07	53·19	58·51	63·83	69·15	74·47	79·79	81·56	85·10	90·43	95·75	
95	92·46	52·61	57·89	63·16	68·42	73·68	78·94	80·71	84·21	89·47	94·74	
96	93·89	52·08	57·29	62·50	67·71	72·92	78·13	79·86	83·33	88·54	93·75	98·96
97	95·34	51·55	56·64	61·86	67·01	72·16	77·32	79·04	82·47	87·63	92·79	97·94
98	96·84	51·02	56·12	61·22	66·33	71·43	76·53	78·28	81·63	86·73	91·84	96·94
99	98·39	50·51	55·56	60·61	65·66	70·71	75·76	77·44	80·80	85·86	90·91	95·96
100·00		50·00	55·00	60·00	65·00	70·00	75·00	76·7	80·00	85·00	90·00	95·00

Zahl der Kubikzentimeter, die mit destilliertem Wasser auf 100 ^{ccm} aufzufüllen sind.

Schlußfolgerungen.

Der 70 prozent. Alkohol (Gewichtsprozente) übertrifft alle anderen Alkoholkonzentrationen bei weitem an bakterizider Kraft, er wirkt beinahe 30 mal stärker als der 60 proz. und über 40 mal stärker als der 80 proz. Alkohol. Alkoholkonzentrationen unter 60 Prozent und über 80 Prozent sind für praktische Desinfektion wertlos. Bei der Alkoholdesinfektion ist die Konzentration des Alkohols vor jedem Gebrauch zu revidieren (Schwimmer), da schon geringe Veränderungen derselben eine direkte Unwirksamkeit für praktische Desinfektion bedingen. Absoluter (entwässerter) Alkohol hat bei Fernhaltung jeglicher Feuchtigkeit konservierende Wirkung auf Bakterien. Die Stärke der Alkoholwirkung ist bedingt: Durch das Vorhandensein einer möglichst starken Alkoholkonzentration einerseits und durch seine Wirksamkeit ermöglichende Feuchtigkeitsmengen andererseits. Das Optimum des Alkoholwassergemisches für Bakterientötung liegt bei 70 Prozent Alkoholgehalt. Höhere Konzentrationen sind wegen Mangel an Wasser unwirksam, indem es zu einer mehr oder weniger starken Austrocknung und Konservierung der Bakterien kommt. Absoluter Alkohol wirkt nicht



abtötend auf trockene Bakterien. Gemische von Alkohol: mit Chloroform, Äther, Benzol, Azeton, Glyzerin, Schwefelkohlenstoff, Petroleumäther übertreffen den wässerigen Alkohol nicht an bakterizider Kraft.

Eau de Cologne wirkt stärker bakterizid als die entsprechende Alkoholkonzentration, und zwar scheint die bakterizide Wirkung derselben mit dem Alter zuzunehmen. Sofort nach der Herstellung ist eine Steigerung der desinfizierenden Wirkung gegenüber der entsprechenden Alkoholkonzentration nicht nachweisbar.

Die meisten ätherischen Öle scheinen rein und in Alkohol gelöst für praktische Desinfektion nicht verwertbar zu sein.

Die Wirkung der Karbolsäure, des Lysols, der Kresolseife und des Kresols wird durch Lösung in Alkohol nicht wesentlich verstärkt.

Jodalkohol übertrifft alle anderen Desinfektionsmittel an bakterizider Kraft und tötet selbst Milzbrandsporen innerhalb 1 Minute. Schwache Jodlösungen erweisen sich schon bei 0·25 Prozent Jodgehalt bei Staphylokokkendesinfektion als absolut sicher.

Dekolorierte Jodtinktur ist der nicht entfärbten unterlegen, wirkt jedoch auch noch sehr stark bakterizid.

Jothion behält seine Wirkung in wässerigen oder eiweißhaltigen Solventien (Jodtinktur ist nur in alkoholischer Lösung wirksam), steht jedoch in alkoholischer Lösung bedeutend hinter den reinen Jodlösungen zurück.

Die Untersuchungen mit Chlormetakresol ergaben eine sehr gute Wirksamkeit des Präparates. Die Wirkung des Alkohols wird selbst durch geringen Chlormetakresolzusatz ganz erheblich verstärkt. Milzbrandsporen wurden durch Verdünnungen bis zu 5 Prozent in $^1/_4$ Stunde nicht abgetötet. Unverdünntes „Eusapyl“ vernichtete die Milzbrandsporen in 5 Minuten. Das unverdünnte Präparat verursachte nach jedem Gebrauch Gefühl von Pelzigsein und Kribbeln in den Händen. In alkoholischer Lösung griff es die Haut nicht merklich an. 5 Minuten langes Waschen mit Chlormetakresol $^1/_2$ Prozent in 70 prozentigem Alkohol hat in sechs Fällen Keimfreiheit der Hände bewirkt. Alkoholische Chlormetakresollösung hat außer der Jodtinktur die beste bakterizide Wirkung gezeigt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Hrn. Geheimrat Professor Dr. Fischer für die Überweisung dieser Arbeit und die gütige Anleitung und Unterstützung meinen gehorsamsten Dank auszusprechen.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität Rostock.]

Vergleichende Untersuchungen über die chemischen und biologischen Eigenschaften von Ruhrbazillen.

Von

Dr. **Winter**,
Stabsarzt im Leib-Grenadier-Regiment König Friedrich Wilhelm III. (1. Brandenb.) Nr. 8.

(Hierzu Taf. III u. IV.)

Bei der großen Ausbreitung, welche die bazilläre Ruhr nach den statistischen Erhebungen von Kruse (1) auch im letzten Jahrzehnt in Deutschland und namentlich in Preußen gewonnen hat, ist es begreiflich, daß sich das Interesse der Bakteriologen in ganz besonderem Maße dieser Seuche zuwendet. Zeugnis hiervon legt die große Fülle von Arbeiten ab, die sich mit diesem Thema befassen. Wenn auch die meisten Forscher mit Kruse heute der Ansicht sind, daß die bazilläre Ruhr durch eine Gruppe von Bazillen hervorgerufen wird, denen allen bestimmte kardinale Eigenschaften gemeinsam sind, wie fehlende Eigenbewegung, Unvermögen Milch zu koagulieren, Traubenzucker unter Gasbildung zu zersetzen und Gelatine zu verflüssigen, so erscheinen doch auch in der neuesten Zeit hin und wieder Arbeiten, die der Ansicht von Celli (2), Valentini (3), Galli Valerio (4), Janowski (5), Deycke (6) und Moreul et Rieux (22) zuneigen, welche das Bacterium coli und seine Abkömmlinge als die Erreger der bazillären Dysenterie ansprechen möchten. Von neueren Beobachtungen in dieser Richtung möge hier nur eine Arbeit angeführt werden aus dem hygienischen Institut der Universität Kyoto von Nakao Abe (7), der aus den Entleerungen von 42 Dysenteriekranken einen Bacillus züchtete, der sich nach seiner Beschreibung in keiner Weise von dem Bacterium coli unterscheidet und von dem Blutserum der Kranken in



einer Verdünnung von 1:300 bis 1:500 agglutiniert wurde. Allerdings vermißt man in dieser Arbeit Angaben darüber, ob die bei den Kranken gefundenen Bazillen nicht auch durch das Serum von nachweislich nicht an Dysenterie erkrankt Gewesenen agglutiniert wurden.

Meine vergleichenden Untersuchungen über Ruhrbazillen, die sich über einen Zeitraum von 3 Jahren erstrecken, umfassen 35 Stämme. Zunächst mögen mir einige kurze Angaben über ihre Herkunft gestattet sein (vgl. Tab. A).

Stamm 1 bis 3. Stämme des hygienischen Instituts der Universität Rostock, seinerzeit übersandt von Geheimrat Löffler, Greifswald.

Stamm 4 bis 6. Prof. Kruse, Bonn.

Stamm 7 bis 10. Staatlich hygienisches Institut zu Bremen, übersandt von Dr. Buchholz.

Stamm 11 bis 19. Königlich bakteriologische Untersuchungsanstalt Saarbrücken, Leiter Dr. Prigge.

Von diesen Kulturen entstammt Nr. 11 einem Einzelfall in Saarbrücken, die übrigen teils einer Anzahl von Ruhrfällen im dortigen Ulanenregiment, teils einer in der Königlichen Strafanstalt zu Saarbrücken aufgetretenen Ruhrepidemie.

Stamm 20 bis 21. Irrenanstalt Mitteldeutschlands, übersandt von Stabsarzt Dr. Nieter, kommandiert zum Hygienischen Institut der Universität Halle.

Stamm 22. Privatdozent Dr. Lucksch in Czernowitz.

Allen Herren, die mich durch Übersendung von Ruhrstämmen bei dieser Arbeit unterstützt haben, gestatte ich mir an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

Stamm 23 bis 35. Diese Stämme wurden von mir während meiner Kommandierung zum Hygienischen Institut der Universität Rostock aus dem im Institut zur Untersuchung gelangten Material gezüchtet. Im besonderen entstammen Nr. 23 bis 29 sporadisch in der Irrenanstalt Gehlsheim aufgetretenen Fällen. Es erübrigt hier des näheren auf die klinischen Symptome dieser Fälle einzugehen, da sie von Oberarzt Dr. Hähnisch (8) in seiner Arbeit „Über Ruhr in Irrenanstalten" ausführlich beschrieben sind.

Stamm 30. Dieser Stamm wurde aus dem Wasser eines Gehöftbrunnens bei Toitenwinkel gewonnen. Es wurde dem Institut zur bakteriologischen Untersuchung übersandt mit dem Bemerken, daß durch seinen Genuß eine Anzahl ruhrartiger Erkrankungen hervorgerufen worden seien. Leider war es nicht möglich, von den Erkrankten Untersuchungsmaterial zu erhalten, weil sie sich entweder gar nicht in ärztliche Behandlung begeben hatten oder aber schon nach wenigen Tagen wieder aus



ihr entlassen worden waren. Die Fälle, in denen es gelang, Ruhrbazillen aus dem Wasser eines verseuchten Brunnens nachzuweisen, beschränken sich, wie ich aus der mir zur Verfügung stehenden Literatur ersehen konnte, auf einige wenige. Die Methode, die hierbei zur Anwendung kam und die sich auch zum Nachweis von Typhusbazillen im Wasser bewährt hat, ist folgende. Fünf große Drigalski-Schalen mit Lackmusmilchzuckeragar wurden mit je 2 ccm des zu untersuchenden Wassers beschickt, die Flüssigkeit gleichmäßig vermittelst eines Glasspatels auf der Oberfläche verteilt und die Platten alsdann unbedeckt in einen Brutschrank von 40 bis 42° gebracht. Nachdem im Verlauf von etwa 2 Stunden die auf den Platten stehende Flüssigkeit zum Verdunsten gebracht worden war, wurden sie bedeckt und 20 Stunden bei 37° bebrütet. Der Vorteil dieses Verfahrens besteht einmal darin, daß eine immerhin beträchtliche Menge von Wasser zur Untersuchung gelangt und ferner darin, daß durch die Einwirkung einer Temperatur von 42° bereits ein sehr großer Teil von Wasserbakterien zugrunde geht, wohingegen Ruhr- und Typhusbazillen dadurch nicht geschädigt werden. Die Zahl der in diesem Brunnenwasser enthaltenen Ruhrbazillen betrug durchschnittlich 4 bis 5 in 1 ccm.

Stamm 31. Entstammt einer Hausepidemie, die in einem Damenstift zwei ältere Damen und ein Dienstmädchen ergriff und mittelschwere Fälle betraf. Nur bei einer der erkrankten Personen gelang es, aus den typischen, blutigschleimigen Ruhrstühlen den Erreger zu züchten.

Stamm 32 und 33. Diese Stämme betreffen ebenfalls eine kleine Hausepidemie, welche die Mutter und zwei Kinder einer Familie in Rostock befiel. In den Stühlen der beiden Kinder, die nach der Genesung der Mutter ziemlich schwer erkrankten, wurden Ruhrbazillen vom Typus Kruse-Shiga nachgewiesen, wie ich hier bemerken möchte, die einzigen dieser Art, die es mir in Rostock aus den Stühlen Ruhrkranker zu züchten gelang.

Stamm 34 und 35 entstammen sporadischen Fällen in Rostock und stehen zeitlich und örtlich in keinem Zusammenhang. Interessant ist namentlich der letzte Fall wegen seines klinischen Verlaufes. Die Patientin, eine ältere Frau, erkrankte ziemlich plötzlich mit heftigen Durchfällen, Erbrechen, Fieber und Schüttelfrösten. Als die Durchfälle sich häuften und einen stark blutigen Charakter annahmen, entschloß sich Patientin, am 4. Tage einen Arzt zu Rate zu ziehen. Der an diesem Tage zur Untersuchung gelangte Stuhl, etwa 300 ccm, bestand fast ausschließlich aus Blut und Schleimhautfetzen; fäkulente Bestandteile waren makroskopisch in ihm nicht wahrzunehmen. Aus den Schleimflocken wurden fast in Reinkultur Ruhrbazillen gezüchtet. Trotz dieser schweren Darmläsion erholte sich die Patientin auffallend schnell. Die Stühle wurden am 6. Tage wieder



fäkulent und am 8. Tage konnte sie bereits auf ihren Wunsch aus der Behandlung entlassen werden.

Auf das Verhalten des Blutserums der erkrankt Gewesenen gegenüber den homologen Stämmen komme ich an späterer Stelle noch zurück.

Allgemeines über Form, Größe und Färbbarkeit der Ruhrbazillen.

Die Ruhrbazillen stellen kurze, plumpe Stäbchen von 1 bis 2 μ Dicke und 2 bis 2·5 μ Länge dar. In Form und Größe kommen jedoch bei den einzelnen Stämmen innerhalb gewisser Grenzen Abweichungen vor. Während einzelne Stämme mehr schlanke typhusähnliche Formen aufweisen, nähern sich die meisten in ihrem Aussehen mehr der Kokkenform. Im allgemeinen sagen ihnen schwach alkalische Nährböden am besten zu. Auf schwach saueren Nährsubstraten wachsen die Bazillen stellenweise zu langen Fäden aus, an denen die Erscheinung der Plasmolyse wahrzunehmen ist. Daneben kommen auch kolbige, sich schlecht färbende Involutionsformen vor. Alle zur Ruhrgruppe gehörenden Bazillen ermangeln der Eigenbewegung, zeigen aber lebhafte Molekularbewegung, die einzelne Forscher wie Shiga (10) und Flexner zunächst veranlaßte, eine mäßige Eigenbewegung für ihre Stämme in Anspruch zu nehmen. Diese Streitfrage ist aber längst zugunsten der Kruseschen Anschauung von der Unbeweglichkeit der Ruhrbazillen entschieden worden. Mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen färben sich die Ruhrbazillen gut, der Gramschen Färbmethode gegenüber verhalten sie sich negativ.

In Peptonfleischwasserbouillon zeigen sie üppiges Wachstum unter Bildung eines nach einigen Tagen auftretenden mäßigen Bodensatzes.

Indol gelang mir selbst an 3 Wochen alten Bouillonkulturen bei keinem meiner Stämme nachzuweisen.

Gelatine wird nicht verflüssigt. In Gelatineplatten sind die tiefliegenden Kolonien rund und feingekörnt, die oberflächlichen ähneln mit ihren schwach gelappten Rändern sehr denen des Typhusbacillus.

In Gelatinestichkulturen zeigen die meisten Stämme nach 8 bis 14 Tagen mehr oder weniger ausgeprägtes flaschenbürstenartiges Wachstum, wie es für den Rotlaufbacillus charakteristisch ist.

Auf Gelatineschrägkulturen entwickelt sich nach einigen Tagen ein zarter, gleichmäßiger, grauweißer Überzug mit weinblattartig ausgebuchteten Rändern. Die Erscheinung, daß nach einigen Wochen die Gelatine sich bräunlich verfärbt, was Kruse (11) als charakteristisch für die echte Dysenterie ansieht, habe ich auch bei einigen Pseudoruhrstämmen beobachtet.



Milch wurde von keinem meiner Stämme, auch nach mehreren Wochen nicht, zur Gerinnung gebracht.

In Lackmusmolke tritt nach 24stündiger Bebrütung ein leicht rötlicher Farbenton auf, der nach weiteren 24 bis 48 Stunden einer intensiven Blaufärbung weicht. Die Schnelligkeit, mit welcher der Farbenumschlag einzutreten pflegt, ist bei den einzelnen Stämmen verschieden.

Neutralrotagar ohne Zusatz von Traubenzucker wird in Stichkulturen von der Oberfläche nach der Tiefe zu fortschreitend im Verlaufe von etwa 8 Tagen aufgehellt. Schneller tritt diese Erscheinung bei Neutralrot-Schrägagarröhrchen auf.

In Traubenzuckeragar-Stichkulturen tritt üppiges Wachstum entlang des Impfstiches ohne sichtbare Gasentwicklung ein.

Auf Lackmusmilchzuckeragar, den ich ausschließlich zum Nachweis von Ruhrbazillen in dem übersandten Untersuchungsmaterial verwandte, bilden sie runde, saftige, hellblaue Kolonien, die sich von denen des Typhus nicht unterscheiden. Der Nährboden selbst zeigt nach einigen Tagen intensive Blaufärbung.

Peptonagar-Schrägkulturen weisen einen wenig charakteristischen, grauweißen, saftigen Belag auf. Unterschiede sind insofern wahrzunehmen, als einige Stämme ganz konstant von jeher ein üppigeres Wachstum zeigten, als andere, eine Erscheinung, auf die auch Kruse (11) bereits hingewiesen hat. Tiefliegende isolierte Kolonien bilden in zwei- oder höherprozentigem Agar regelmäßig Wetzsteinform, eine Eigentümlichkeit, welche die Ruhrbazillen mit vielen anderen Vertretern der Typhus-Coli-Gruppe teilen und die durch die Sprödigkeit des Nährbodens bedingt ist. Das Zustandekommen dieser Form geschieht etwa in folgender Weise. Durch die kräftig wachsende junge Kolonie wird der Nährboden an der betreffenden Stelle auseinandergedrängt; sobald nun seine Elastizitätsgrenze überschritten ist, kommt es zu einem feinen Riß, der infolge des Druckes der Kolonie und der im Nährboden herrschenden Spannungsverhältnisse alsbald die oben erwähnte Wetzsteinform annimmt. In $^1/_2$ prozentigem Agar bleibt diese Erscheinung aus, in solchem sind die tiefliegenden Kolonien rund und gleichen vollkommen den tiefliegenden Kolonien in einer Gelatineplatte.

Auf eine für alle Ruhrstämme charakteristische Eigenschaft möchte ich an dieser Stelle etwas näher eingehen, nämlich auf ihre Vorliebe, sekundäre Oberflächenkolonien zu bilden, eine Erscheinung, die auch von Preisz (12) und Eisenberg (18) bereits beobachtet wurde. Auf mehrere Tage alten Agarkulturen, die nach 16 bis 24stündiger Bebrütung bei 37° vor Licht geschützt bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden, bilden sich häufig zunächst winzig kleine, runde, glasige Erhebungen. Im Laufe der



nächsten Tage ändert sich dieses Aussehen; die Kolonien nehmen an Breite und Dicke zu und bekommen ein intensiv weißes porzellanartiges Aussehen, wodurch sie sich von dem primären grauweißen Bakterienrasen scharf abheben. Die Zahl der auf diese Weise entstehenden sekundären Kolonien ist sehr wechselnd; manchmal finden sie sich nur ganz vereinzelt, zuweilen aber ist, wie Fig. 2 S. 279 zeigt, die Kultur dicht mit ihnen bestanden. Zeitlich läßt sich für ihre Entstehung keine Norm aufstellen. Frühestens habe ich das Auftreten von Sekundärkolonien nach 3 Tagen beobachtet, zuweilen aber entwickeln sie sich erst nach 2 bis 3 Wochen und noch später. Ferner kann in demselben Kulturröhrchen die Neuentwicklung solcher Kolonien wochenlang andauern, so daß man in ein und demselben Röhrchen Sekundärkolonien in den verschiedensten Größen, von Stecknadelkopf- bis Hirsekorngröße finden kann. Eine Schrägagarkultur des Stammes 23 Bew., die versiegelt 6 Monate im Dunkeln aufbewahrt worden war und bis dahin keine Sekundärkolonien gebildet hatte, zeigte sich 3 Tage später, nachdem sie zwecks Entnahme einer Probe geöffnet worden war, dicht mit etwa 100 solcher Kolonien von $^1/_2$ mm Durchmesser besetzt. Charakteristisch für die Sekundärkolonien ist die Eigentümlichkeit, daß sie den Rand des ursprünglichen Bakterienrasens nicht zu überschreiten pflegen, wie dies auch aus den Figg. 1 bis 3 ersichtlich ist. Dem Nährboden zugesetzte Farbstoffe werden von ihnen nicht aufgenommen. Fig. 3 zeigt ein Maltoselackmusagarröhrchen; während der primäre Kulturrasen hier ein blaugraues Aussehen hat, sind die Sekundärkolonien rein weiß. Das Temperaturoptimum für ihre Entwicklung liegt nach meiner Erfahrung bei 15 bis 18° C. Röhrchen mit jungen Sekundärkolonien in einen Brutschrank von 38° C gebracht, zeigten entweder nur eine sehr kümmerliche Weiterentwicklung oder sogar ein baldiges Absterben. Für den mit der Bildung solcher Sekundärkolonien nicht Vertrauten werden sie zunächst den Eindruck von Verunreinigungen machen. Ich habe anfangs auch diesen Verdacht gehegt, aber alle meine Versuche, fremde Organismen in den Sekundärkolonien nachzuweisen, haben ein negatives Resultat gezeitigt; stets ließen sich aus ihnen nur Reinkulturen des betreffenden Ruhrstammes züchten, die sich in chemischer und biologischer Hinsicht nicht im mindesten von der ursprünglichen Kultur unterschieden. In mit Alkohol gehärteten und mit Methylenblau gefärbten mikroskopischen Ausstrichpräparaten von jungen, etwa 8 Tage alten Sekundärkolonien sieht man neben der Mehrzahl sich gleichmäßig gut färbender Bazillen von normaler Größe und Form zahlreiche intensiv dunkel gefärbte Individuen mit spitzer zulaufenden Enden. Formen, die nach ihrem tinktoriellen Verhalten als echte Sporen anzusprechen wären, lassen sich jedoch nicht nachweisen.



Präparate von etwa 4 Wochen alten Sekundärkolonien zeigen ein anderes Bild. Hier sind Fadenformen, die häufig an Länge dem Durchmesser des Gesichtsfeldes gleichkommen, vorherrschend, daneben finden sich auch Involutionsformen mit kolbigen und tonnenförmigen Auftreibungen, die den Farbstoff nur schlecht annehmen. Hervorzuheben ist, daß den Individuen der Sekundärkolonien eine hohe Lebensfähigkeit zukommt. Wenn bei mehrere Monate alten Kulturen der primäre Bakterienrasen längst abgestorben ist, lassen sich aus den Sekundärkolonien durch Überimpfen

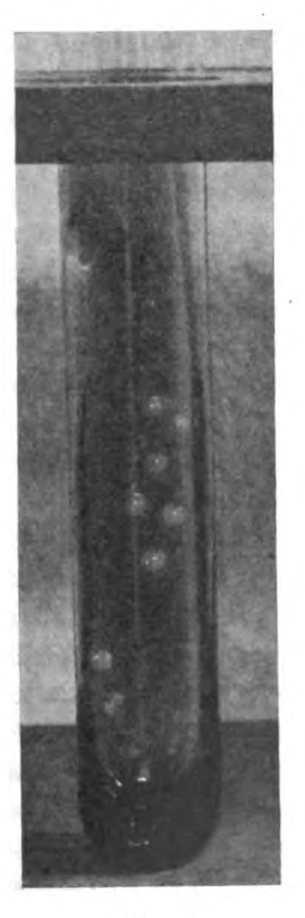


Fig. 1.



Fig. 2.

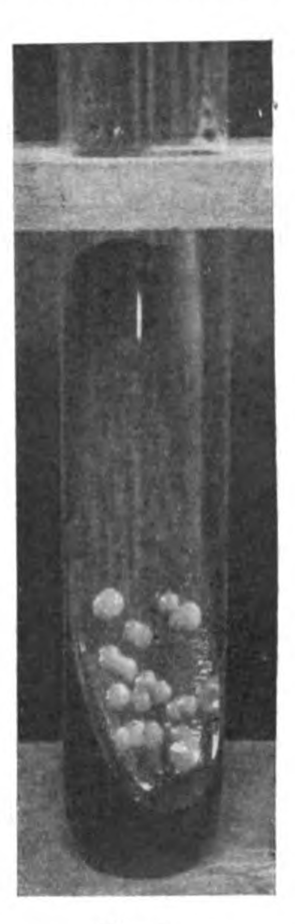


Fig. 3.

immer noch üppige Kulturen erzielen, die aber ihrerseits nur in seltenen Fällen wieder Sekundärkolonien bilden. Charakteristisch ist ferner, daß diese Sekundärkolonien niemals regelmäßig in allen Kulturröhrchen auftreten. Bei den alle Monate vorgenommenen Überimpfungen der Kulturen stellte sich heraus, daß immer nur ein Teil der Stämme Sekundärkolonien gebildet hatte, wie aber eine 2 Jahre hindurch darüber geführte Statistik ergibt, traten sie gelegentlich bei allen Stämmen, sowohl denen

der echten, wie der Pseudodysenterie auf. Willkürlich Sekundärkolonien zu erzeugen, ist mir bisher nicht gelungen.

Ich komme nun zu der interessanten Frage: Woher beziehen diese Kolonien ihre Nährstoffe, und was haben sie für eine Bedeutung?

Ich erwähnte bereits, daß Sekundärkolonien nicht über den Rand des primären Bakterienrasens hinauszuwachsen pflegen; des weiteren läßt sich durch Versuche feststellen, daß eine mehrere Tage alte Kultur die in einem Schrägagarröhrchen vorhandenen Nährstoffe vollkommen erschöpft. Enfernt man nämlich von einem 3 Tage alten Agarkulturröhrchen den Bakterienrasen durch Abkratzen mit einem Platinspatel und impft auf diese abgeschabte Stelle neues Bakterienmaterial von Sekundärkolonien, so tritt keine sichtbare Vermehrung von Bakterienmasse ein, bringt man dagegen von einer jungen Sekundärkolonie Material auf eine andere Stelle des primären Bakterienrasens, so findet dort eine Weiterentwicklung der Sekundärkolonie statt. Ich glaube, daß man nach diesen Versuchen zu der Annahme berechtigt ist, daß die Sekundärkolonien das zu ihrem Aufbau erforderliche Material aus dem primären Bakterienrasen schöpfen, ihre Individuen also gewissermaßen ein Kannibalendasein führen. Für die Annahme, daß sie sich von den Zerfallsprodukten ihrer untergegangenen Genossen ernähren, würde auch der Umstand sprechen, daß die Sekundärkolonien erst dann zur Entwicklung gelangen, wenn bereits ein massenhaftes Absterben von Individuen in den ursprünglichen Bakterienrasen stattgefunden hat, was nach 3 bis 4 Tagen der Fall zu sein pflegt. Untersuchungen, die ich nach dieser Richtung hin anstellte, indem ich in Aufschwemmungen von 4 Tage alten Agarkulturen einmal die Zahl der in 1 ^{ccm} enthaltenen Bazillen durch Zählen mit dem Thoma-Zeißschen Apparat feststellte, andererseits durch Aussäen in Gelatineplatten die Zahl der in dem gleichen Volumen enthaltenen keimfähigen Individuen bestimmte, ergaben, daß von 45000000 Bazillen nur 40000 zur Auskeimung gelangten. Dieses Zahlenverhältnis verschiebt sich im Laufe der Zeit immer mehr zuungunsten der keimfähigen Individuen. Der Grund für das manchmal erst nach mehreren Wochen stattfindende Erscheinen von Sekundärkolonien ist vielleicht zu suchen in dem Vorhandensein einer größeren oder geringeren Menge der von Conradi (14) festgestellten bakteriziden wasserlöslichen Giftstoffe, die sich in Ruhr- und Typhuskulturen bei Bruttemperatur bilden, deren Giftwirkung aber im Laufe der Zeit abnimmt. Es würde danach erst zur Bildung von Sekundärkolonien kommen, wenn diese Stoffe durch weitere chemische Umsetzungen ihre wachstumshemmende Wirkung verloren haben.

Sehr schwierig gestaltet sich die Beantwortung der Frage nach dem Wesen und der Bedeutung dieser Sekundärkolonien. Vielleicht verdanken



sie ihre Entstehung, wie auch Preisz (12) annimmt, besonders resistenten lebensfähigen Individuen, vielleicht sind sie auch hervorgegangen aus Dauerformen, die als Produkt einer Zellverschmelzung nach Art der Zygosporenbildung bei den niedersten Tallophyten zu betrachten sind, und denen die Erhaltung der Art obliegt. Inwieweit diese resistenten Formen bei der Weiterverbreitung der Ruhrerkrankungen eine Rolle spielen, wie sie sich ferner gegenüber Desinfektionsmitteln verhalten, muß weiterer Forschung vorbehalten bleiben.

Verhalten der Ruhrbazillen gegenüber verschiedenen Zuckerarten.

Dem Beispiele vieler Vorgänger folgend, habe auch ich das Verhalten der mir zur Verfügung stehenden Ruhrstämme gegenüber verschiedenen Zuckerarten sowie dem Mannit und Dulcit gegenüber geprüft, um eventuell eine Klassifizierung der einzelnen Arten in dieser Richtung vornehmen zu können. Ich benutzte zu diesem Zweck Strichkulturen auf Peptonfleischwasseragar mit Zusatz von 1 Prozent der verschiedensten Zuckerarten und Lackmuslösung als Indikator. Das Ergebnis dieser Untersuchungen erhellt aus Tabelle A. Es ergibt sich daraus, daß die Monosaccharide von allen Stämmen, sowohl der echten, wie der Pseudodysenterie angegriffen werden, was sich durch die starke Rötung des Nährbodens kundgibt. Anders gestalten sich die Verhältnisse bei den Disacchariden. Von diesen wird anscheinend nur die Maltose von einer kleinen Anzahl von Stämmen zersetzt, Milchzucker und Rohrzucker dagegen nicht. Ebensowenig scheinen die Tri- und Polysaccharide angegriffen zu werden. Bezüglich des Mannits ergab sich die schon von Lentz (21) beobachtete Tatsache, daß alle Arten von Ruhrbazillen mit Ausnahme der echten Kruse-Shigaschen Dysenteriebazillen die Mannitröhrchen stark röteten. Das zweifelhafte Verhalten mehrerer Stämme wie Nr. 6 Pseudodysenterie A, Nr. 15 Niehues, Nr. 17 Friemenjost gegenüber der Maltose, indem die letztgenannten Stämme die Maltoseröhrchen entweder nur im oberen Teil röteten, oder aber die Farbe des Röhrchens nach einigen Tagen wieder in Blau umschlug, veranlaßten mich, nach Mitteln und Wegen zu suchen, um quantitativ festzustellen, ob und in welcher Menge die in Frage kommenden Zuckerarten zersetzt wurden. Hierfür kam es nun zunächst darauf an, einen möglichst einfachen flüssigen Nährboden zu finden, der sich in seiner Zusammensetzung genau dosieren ließ und keine Fehlingsche Lösung reduzierende Substanzen enthielt. Versuche mit Fleischwasserbouillon ergaben, was letzteren Punkt anlangt, schwankende Resultate, wegen des wechselnden Gehaltes des zur Herstellung des Nährbodens ver-



Tabelle A.

Verhalten der Ruhrbazillen gegenüber Lackmusagar mit Zusatz von 1 Prozent verschiedener Zuckerarten, sowie von Mannit und Dulcit.

Nummer	Stamm	Monosaccharide				Disaccharide			Trisaccharide	Polysaccharide				
		Glukose	Fruktose	Mannose	Galaktose	Maltose	Laktose	Saccharose	Raffinose	Dextrin	Glykogen	Stärke	Mannit	Dulcit
1	Meyer	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
2	Schröter	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
3	Flexner	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
4	Dysenterie Kruse	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	Pseudodysenterie D	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
6	„ A	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	+	—
7	Flexner Bremen	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
8	Pseudoruhr Bremen I	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
9	„ „ II	+	+	+	+	-	—	—	—	—	—	—	+	—
10	Kruse Bremen	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	Kühl	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
12	Reuter	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
13	Richmüller	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
14	Wichler	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
15	Niehues	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	+	—
16	Picard	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
17	Friemenjost	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	+	—
18	Goolt	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
19	Müller II	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
20	Keßler	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
21	Will	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
22	Fefczak	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
23	Bew.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
24	Dettm.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
25	Draw.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
26	Schtz.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
27	Wlf.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
28	Grassm.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
29	Allwt.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
30	H_2O Toitenwinkel	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
31	Döbbertin	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
32	K. Bahl	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
33	E. Bahl	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
34	Burmeister	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
35	Lueczinska	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—

Es bedeutet: + = Rötung des Nährbodens durch starke Säurebildung. — = Bläuung durch vermehrte Alkalibildung. ± = wechselndes Verhalten.



wandten Fleisches an Fleischzucker. Bei Verwendung von Pepton traten ebenfalls in wechselnder Menge reduzierende Substanzen auf, welche diesen kompliziert aufgebauten Stoff für gedachten Zweck als nicht geeignet erscheinen ließen.

Nach vielfachen Versuchen in dieser Richtung fand ich in dem Ovimukoid des Hühnereiweißes einen geeigneten Ersatz. Es wurde nach Cohnheim (15) zuerst von Neumeister und Salkowski gefunden und von Mörner als ein Glykoproteid erkannt. Es ist im Eiereiweiß in einer Menge von etwa 11 Prozent enthalten, wird durch Erhitzen nicht koaguliert und durch Essig-, Salz- und Salpetersäure nicht gefällt, wohl aber durch Gerbsäure, Phosphorwolframsäure, Bleiazetat und Alkohol. In kaltem Wasser quillt es nur, löst sich in heißem Wasser und bleibt nach dem Abkühlen in Lösung. Der Nährboden wird nun in folgender Weise hergestellt. 45·0 grm getrocknetes Hühnereiweiß werden in 1000 ccm kalten Wassers gelöst; alsdann wird die Lösung 1 Stunde im Dampftopf gekocht, wobei das Albumin und Globulin koaguliert, und die Flüssigkeit noch heiß filtriert. Das Filtrat stellt eine vollkommen klare, leicht gelblich gefärbte Flüssigkeit dar, die sich selbst bei stundenlangem Kochen nicht mehr trübt und Fehlingsche Lösung nicht reduziert. Die Menge des Stickstoffs beträgt in dieser Lösung bei Verwendung von 45·0 grm Eiweiß auf 1000 ccm Wasser, nach Kjeldahl bestimmt und auf Eiweiß umgerechnet, 0·5 Prozent. Dieser Eiweißlösung werden dann noch 0·5 Prozent Kochsalz, 0·5 Prozent der betreffenden Zuckerart und Natriumkarbonat bis zur schwach alkalischen Reaktion zugesetzt und die sterilisierte Lösung zu den Versuchen verwandt. Die Zuckerbestimmungen wurden nach dem Allihnschen Verfahren vorgenommen. Für die Versuche mit Maltose wurde nur reine Kahlbaumsche Maltose verwandt, weil sich herausstellte, daß viele andere Präparate des Handels mehr oder weniger stärkehaltig waren.

Meine Untersuchungen hatten nun das überraschende Ergebnis, daß sämtliche von mir untersuchten Stämme, sowohl die der echten Kruseschen Dysenterie wie die der Pseudodysenterie, die Flexnerschen Stämme einbegriffen, in erheblichem Maße die Maltose, in geringerem Grade aber auch den Milchzucker zersetzten, woraus sich eine noch viel engere Verwandtschaft zwischen den einzelnen Stämmen, als bisher angenommen wurde, ergibt.

Wenn trotz der mit erheblicher Säurebildung einhergehenden Zersetzung der Kohlehydrate in den Lackmusmaltose- und Lackmusmilchzucker-Agarröhrchen bei den meisten Ruhrstämmen eine Rötung des Nährbodens nicht eintritt, so ist der Grund hierfür darin zu suchen, daß einzelne Stämme in der gleichzeitigen Zersetzung der Eiweißkörper und



der damit einhergehenden Bildung von Ammoniak eine größere Energie zeigen als andere. Solange die Säure- und Alkalibildung sich das Gleichgewicht halten, wird die Farbe des Nährbodens nicht verändert werden; ein ganz geringes Überwiegen nach der einen oder anderen Seite wird aber bei der Empfindlichkeit des Lackmusindikators eine Rötung oder Blaufärbung des Nährbodens hervorrufen. Ferner kann, sobald durch die bei der Zersetzung des Kohlehydrates gebildete Säure eine die Lebenstätigkeit der Ruhrbazillen hemmende Wirkung ausgelöst wird, die Produktion von Ammoniak durch Zersetzung des für die Ruhrbazillen anscheinend leichter angreifbaren Eiweißmoleküls die Oberhand gewinnen.

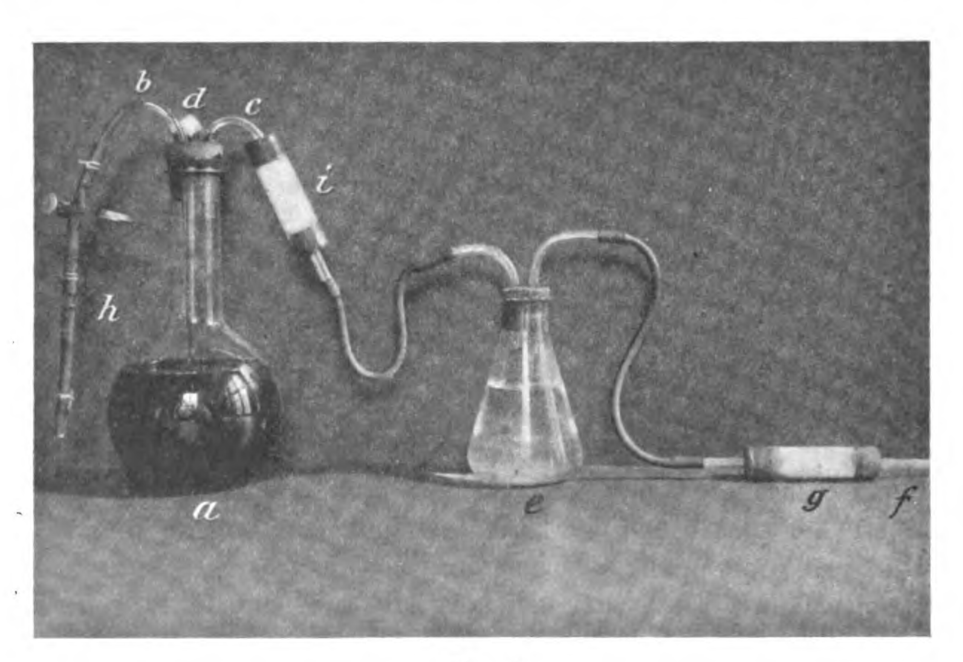


Fig. 4.

Es wird in solchen Fällen die anfangs rote Färbung des Nährbodens nach einigen Tagen in eine blaue umschlagen. Wir würden hiernach bei den einzelnen, anscheinend sehr voneinander abweichenden Stämmen in ihren chemischen Leistungen keine qualitativen, sondern nur quantitative Unterschiede haben.

Um das Fortschreiten der Zersetzung der Kohlehydrate in ein und demselben Kulturkolben längere Zeit beobachten zu können, stellte ich mir den oben abgebildeten Apparat (s. Fig. 4) zusammen. Dieser ermöglicht es, zu jeder Zeit beliebig große Mengen der Kulturflüssigkeit steril zu entnehmen und hat außerdem den Vorzug, keinen großen Raum zu beanspruchen, wodurch die Unterbringung mehrerer auf diese Weise

armierter Kulturkolben in einem Brutschrank von üblichen Größenverhältnissen ermöglicht wird.

In Fig. 4 bezeichnet *a* den etwa 500 ccm fassenden Kulturkolben mit dreifach durchbohrtem Gummistopfen. Durch letzteren führt das bis auf den Boden des Kolbens reichende Steigrohr *b* mit einem zu einer Spitze ausgezogenen gläsernen Ansatzstück *h*, das durch ein mit Quetschhahn versehenes Gummirohr mit dem Steigrohr verbunden ist. Das Ansatzstück ist durch ein darüber gezogenes am äußeren Ende verschlossenes Gummirohr, das nach jedesmaliger Entnahme von Kulturflüssigkeit durch ein neues steriles ersetzt wird, gegen Infektion von außen gesichert. *c* ist das Rohr für den Eintritt der Druckluft, an ihm befindet sich ein Wattefilter *i*; *d* ist ein kurzes Glasrohr, durch welches die Kolbenflüssigkeit mit der betreffenden Bakterienart infiziert wird und das nach erfolgter Infektion versiegelt wird; *e* stellt eine Waschvorlage mit 1 promilliger Sublimatlösung dar, um Keime, die bei dem Einblasen von Luft durch das Mundstück *f* das Wattefilter *g* noch passiert haben sollten, zurückzuhalten. Sämtliche Verbindungsstellen von Glas und Gummi sind mit alkoholischer Schellacklösung gedichtet. Es gelingt vermittelst dieser einfachen Anordnung, die Kulturkolben monatelang vor Verunreinigung zu schützen. Zur Kontrolle wurden von der jeweilig entnommenen Kulturflüssigkeit Strichkulturen auf Lackmusagarplatten angelegt.

Ich lasse nun einige Tabellen (Tabelle B und C) folgen, die Aufschluß geben über die Menge der zersetzten Kohlehydrate, der dabei gebildeten freien Säure, sowie über das zahlenmäßige Wachstum der Bakterien.

Auffallend in diesen Tabellen ist die stetig in größerem oder geringerem Maße wiederkehrende Erscheinung, daß nach einiger Zeit die Menge des reduzierten Kupfers, anstatt weiter abzunehmen, wieder ansteigt. Am deutlichsten kommt diese Erscheinung in den Maltosetabellen zum Ausdruck. Man könnte ja zunächst an einen Analysenfehler denken; betreffs dieses Einwurfes möchte ich bemerken, daß alle erhaltenen Werte durch Kontrollanalysen gesichert wurden, und das Resultat nur als beweisend angesehen wurde, wenn die erhaltenen Werte um höchstens 0·5 mg für 25 ccm Untersuchungsmaterial differierten. Gegen Analysenfehler sprach ferner auch die Regelmäßigkeit, mit der diese Erscheinung auftrat. Vergleicht man nun die Menge des reduzierten Cu mit der Zahl der jeweilig im Kolben enthaltenen keimfähigen Bazillen, so findet man, daß eine gesteigerte Reduzierung von Cu gewöhnlich dann beobachtet wird, wenn kurz vorher ein massenhaftes Absterben von Bazillen stattgefunden hat. Diese beiden in Parallele stehenden Tatsachen legten die Vermutung nahe, daß in den abgestorbenen Bazillenleibern eine reduzierende Substanz gebildet wurde. Durch folgenden Versuch wurde diese



Tabelle B. Tabelle über die Zersetzung von Maltose in Eiweißlösung durch Ruhrbazillen.

Stamm	Zahl der Versuchs-tage	Gehalt an Maltose bei Beginn des Versuches mg in 100 ccm	Menge des reduzierten Cu mg in 25 ccm	Entspricht Maltose nach Wein mg in 25 ccm	Entspricht Maltose nach Wein mg in 100 ccm	Menge der zersetzten Maltose mg in 100 ccm	Menge der gebildeten freien Säure entspr. $^1/_{10}$ Norm. NaOH i. 100 ccm	Zahl der Bakterien bei Beginn des Versuches in 1 ccm	Zahl der Bakterien in 1 ccm
6. Pseudo-dysenterie A	3	312·0	53·3	45·47	181·88	*130·12*	3·4 ccm	19 850	61 000 000
	6		49·6	42·28	169·12	*142·88*	3·0 „		9 750 000
	9		51·6	44·04	176·16	*135·84*	2·2 „		17 050 000
	13		51·7	44·13	176·52	*135·48*	2·5 „		80 000 000
	17		41·7	35·43	141·72	*170·28*	2·0 „		20 000 000
	21		39·2	33·26	133·04	*178·96*	1·8 „		6 100 000
10. Dysenterie Kruse Bremen	3	312·0	56·8	48·52	194·08	*117·92*	2·8 ccm	21 600	39 000 000
	6		45·9	39·02	156·08	*155·92*	2·6 „		10 000 000
	9		42·4	36·02	144·08	*167·92*	1·9 „		7 675 000
	13		42·4	36·02	144·08	*167·92*	2·0 „		32 000 000
	17		35·7	30·23	120·92	*191·08*	2·4 „		50 875 000
	21		28·3	23·87	95·48	*216·52*	2·4 „		50 100 000
23. Bow.	3	404·8	93·9	81·11	324·44	*80·36*	1·8 ccm	80 000	117 000 000
	7		93·8	81·02	324·08	*80·72*	1·8 „		52 500 000
	13		90·1	77·79	311·16	*93·64*	1·2 „		31 000 000
	63		67·4	57·76	231·04	*173·76*	0·9 „		4 340 000
3. Flexner	3	404·8	83·7	72·13	288·52	*116·28*	2·4 ccm	75 000	119 280 000
	7		87·7	75·63	302·52	*101·28*	2·0 „		73 370 000
	13		71·2	61·16	244·64	*160·16*	1·9 „		43 000 000
	63		55·4	47·32	189·28	*215·52*	1·4 „		8 640 000
17. Friemenjost	3	404·8	86·8	74·82	299·28	*105·52*	2·5 ccm	87 000	87 360 000
	8		92·2	79·66	318·64	*86·16*	2·1 „		45 000 000
	13		74·8	64·32	257·28	*147·52*	2·0 „		26 240 000
	68		48·4	41·26	165·04	*239·76*	1·3 „		8 180 000
4. Dysenterie Kruse	6	422·0	112·5	97·70	390·80	*31·20*	2·4 ccm	72 100	7 764 000
	12		98·2	84·98	339·92	*82·08*	1·6 „		500 000
	19		94·8	81·92	327·68	*94·32*	1·8 „		2 520 000



Tabelle C.

Tabelle über die Zersetzung von Milchzucker in Eiweißlösung durch Ruhrbazillen.

Stamm	Zahl der Versuchstage	Menge des reduzierten Cu mg in 25 ccm der Kulturflüssigkeit	Entspricht Milchzucker nach Wein in 25 ccm der Kulturflüssigkeit	Entspricht Milchzucker nach Wein in 100 ccm der Kulturflüssigkeit	Menge des zersetzten Milchzuckers in 100 ccm Kulturflüssigkeit	Menge der gebildeten freien Säure entsprechend d. Verbrauch von ccm 1/10 Normal-NaOH in 100 ccm	Zahl der keimfähigen Bazillen in 1 ccm bei Beginn des Versuches	Zahl der keimfähigen Bazillen im weiteren Verlauf des Versuches in 1 ccm	Menge des Milchzuckers in der Kulturflüssigkeit bei Beginn des Versuches mg i. 100 ccm
3. Flexner	5	137·8	99·66	398·64	*16·96*	2·5 ccm	20 400	52 600 000	415·6
	13	138·6	100·22	400·88	*14·72*	2·0 „		2 557 000	
	21	140·4	101·58	406·32	*9·28*	0·3 „		2 520 000	
	43	133·3	96·34	385·36	*30·24*	0·3 „		3 200 000	
	61	124·4	89·68	358·72	*56·88*	0·6 „		4 500 000	
4. Dysenterie Kruse	3	139·4	100·82	403·28	*12·32*	1·5 ccm	48 800	18 440 000	415·6
	6	140·1	101·37	405·48	*10·12*	1·5 „		16 136 000	
	9	141·1	102·08	408·32	*7·28*	1·5 „		38 000 000	
	25	139·2	100·66	402·64	*12·96*	0·6 „		2 968 000	
29. Allwt.	5	136·8	98·94	395·76	*19·84*	1·5 ccm	20 100	75 000 000	415·6
	13	139·7	101·06	404·24	*11·36*	1·4 „		21 000 000	
	19	140·9	101·93	407·72	*7·88*	0·75 „		2 990 000	
	29	138·0	99·80	399·20	*16·40*	0·8 „		1 860 000	
	42	135·2	97·74	390·96	*24·64*	0·52 „		2 280 000	
	59	131·2	94·74	378·96	*36·64*	0·8 „		3 200 000	
4. Dysenterie Kruse.	17	110·4	79·32	317·28	*61·62*	0·5 ccm	20 000	435 000	378·9
	73	103·1	73·88	295·52	*83·38*	0·4 „		13 900	

Vermutung bestätigt. Eine in der oben angegebenen Weise hergestellte Eiereiweißlösung, die auf das Fehlen von Cu reduzierenden Substanzen hin geprüft worden war, wurde mit verschiedenen Ruhrstämmen infiziert und die einzelnen Kulturkolben nach 8 tägiger Bebrütung untersucht. Es stellte sich dabei heraus, daß die Kulturflüssigkeit mit den darin suspendierten Bakterienleibern geringe Mengen Cu, in einem Falle 3 mg für 25 ccm Untersuchungsmaterial reduzierte, wohingegen das durch Tonfilter von den Bakterienleibern befreite Filtrat keine reduzierenden Substanzen mehr enthielt. Auffallend ist ferner ein häufig zu beobachtendes Schwanken der Bakterienzahl und ein damit Hand in Hand gehendes Auf- und Absteigen der Säureproduktion, eine Erscheinung, auf die auch Riemer (20) in seiner Arbeit über den Stoffwechsel des Staphylococcus aureus hinweist. Bemerken möchte ich noch, daß die Versuchskolben während der ganzen Dauer der Beobachtung im Brutschrank bei 37° C aufbewahrt wurden und immer nur zwecks Entnahme von Proben auf kurze Zeit aus ihm herausgenommen wurden. Durch Ausstriche auf Lackmusmilchzuckeragar wurde nach jeder Entnahme die Kulturflüssigkeit auf Reinheit geprüft.

Meine Untersuchungen erstreckten sich dann weiter auf die bei der Zersetzung von Maltose und Milchzucker gebildeten Stoffwechselprodukte. Als ständiges Spaltungsprodukt wurde in allen Fällen neben Kohlensäure Alkohol, jedoch immer nur in geringen Mengen gefunden. Zu seinem Nachweis wurden 500 ccm einer 3 Wochen alten Maltose-Eiweißlösungkultur nach Neutralisation mit Natriumkarbonat im strömenden Wasserdampf überdestilliert. Das Destillat wurde nochmals rektifiziert und 5 ccm des so gewonnenen Materials mit Natriumkarbonat und wäßriger Jodlösung versetzt. Das hierbei sich bildende Jodoform wurde sowohl durch den Geruch, als auch mikroskopisch durch die typischen Kristalle als solches erkannt. Bei der Destillation im strömenden Wasserdampf gingen ferner noch beträchtliche Mengen von Schwefelammon und freiem Ammoniak über. Schwefelwasserstoff wurde nachgewiesen mit Bleipapier, Ammoniak durch Lackmuspapier und Neßlersches Reagens. Des weiteren wurden dann die gebildeten flüchtigen Säuren bestimmt. Der nach obiger Destillation im Kolben verbleibende Teil wurde mit Phosphorsäure stark angesäuert und der Destillation im strömenden Wasserdampf unterworfen. Das Destillat roch intensiv nach Buttersäure. An den kälteren Teilen des Kühlrohres, sowie auf der Oberfläche des Destillates schieden sich weiße schollige Massen, bestehend aus höheren in Wasser unlöslichen Fettsäuren, ab. Sie konnten wegen ihrer geringen Mengen im einzelnen chemisch nicht identifiziert werden. In Betracht kommen Capron-, Capryl-Caprinsäure. Nachdem letztere durch Filtration von dem Destillat ge-



schieden waren, wurde es bis auf wenige Kubikzentimeter auf dem Wasserbade eingeengt, der übrig bleibende Anteil mit verdünnter Schwefelsäure und absolutem Alkohol versetzt und der Destillation unterzogen. Das Destillat wies den für Buttersäureesther charakteristischen Geruch nach Ananas auf. Die auf dem Filter zurückgebliebenen weißen Schollen zeigten unter dem Mikroskop aus einer Lösung in Äther auskristallisiert das typische Bild der aus büschelförmig angeordneten feinen Nadeln bestehenden Fettsäurekristalle. Aus den Milchzuckerkolben wurden die gleichen Produkte, wie aus den Maltosekolben gewonnen. Der Versuch, etwa vorhandene Milchsäure als milchsaures Zink nachzuweisen, hatte negatives Ergebnis, dagegen traten hierbei stechend riechende Dämpfe, herrührend von niederen Fettsäuren, Ameisensäure und Essigsäure auf. Erstere ließ sich durch ihr Reduktionsvermögen für alkalische Silbernitratlösung identifizieren.

Bildung von riechenden Substanzen.

Eine charakteristische Eigenschaft vieler Ruhrstämme ist die: bei Züchtung auf den gebräuchlichen Nährböden stark riechende Substanzen zu bilden. Während einige Stämme, namentlich auf Peptonagar und in Bouillon gezüchtet nur den leicht aromatischen Geruch des Nährbodens aufweisen, tritt bei anderen ein intensiver Geruch nach Sperma auf, wie ihn z. B. die Blüten der Roßkastanie verbreiten. Bei wieder anderen erinnert der mehr stechende Geruch an eine Mischung von Trimethylamin und Ammoniak. Bei einigen Stämmen, wie Nr. 18 Goolt und Nr. 11 Kühl, ist der Geruch so intensiv und charakteristisch, daß man sie dadurch leicht aus der großen Zahl der anderen Stämme herausfindet. Hervorzuheben ist die Konstanz, welche die einzelnen Stämme in dieser Hinsicht zeigen. Zwar gelingt es durch längere Zeit fortgesetztes Züchten auf schwach saueren Nährböden die Fähigkeit eines Stammes, riechende Substanzen zu bilden, etwas herabzumindern, sobald aber der betreffende Stamm wieder auf einen ihm zusagenden alkalischen Nährboden gebracht wird, tritt der charakteristische Geruch wieder in der gleichen Intensität auf. Andererseits ist es mir bisher durch die verschiedensten Kulturversuche nicht gelungen, einen geruchlosen Stamm dazu zu bringen, riechende Stoffe zu bilden. In diesem Verhalten ist nach nunmehr 3 jähriger Beobachtungszeit bei keinem der Versuchsstämme eine Änderung eingetreten. Auffallend ist ferner, daß unter den Kulturen Nr. 23 bis 29, die alle aus derselben Anstalt stammen und in ihrem sonstigen chemischen und biologischen Verhalten nicht voneinander zu unterscheiden sind, woraus man auf eine gemeinsame Abstammung schließen kann,



Nr. 25 Draw. und Nr. 27 Wlf. einen sehr starken Geruch aufweisen, wohingegen die übrigen geruchlos sind. Man könnte geneigt sein, aus diesem Verhalten den Schluß zu ziehen, daß die Fähigkeit riechende Substanzen zu bilden von einzelnen Stämmen bei der Passage durch den menschlichen Organismus erlangt wird.

Um diese riechenden Substanzen chemisch näher zu bestimmen, wurde in folgender Weise verfahren: 500 ccm einer 14 Tage alten Bouillonkultur des stark riechenden Stammes Nr. 15 Niehues wurden mit Kalkmilch im Überschuß versetzt und im Wasserdampfstrom in eine Vorlage mit verdünnter Salzsäure überdestilliert. Das sauer reagierende Destillat wurde auf dem Wasserbade bis zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit 96 prozentigem Alkohol ausgekocht, wobei die Chloride der organischen Basen, nicht aber das beigemengte Chlorammonium in Lösung gingen. Nachdem letzteres durch Filtration abgeschieden war, wurde das Filtrat zur Trockne eingedampft, der Salzrückstand nochmals mit Kalkmilch versetzt, überdestilliert und das übergehende Gas in Wasser aufgefangen. Das Destillat wies deutlichen Geruch nach Heringslake auf, was auf das Vorhandensein von Trimethylamin schließen ließ. Durch Zusatz einer geringen Menge dieses Destillates und weniger Tropfen einer stark verdünnten Schwefelammonlösung zu 2 prozentigem Peptonagar ließ sich künstlich ein Geruch hervorrufen, welcher dem durch den Stamm Niehues auf den Kulturplatten erzeugten sehr ähnlich war.

Lebensdauer der Ruhrbazillen außerhalb des menschlichen Körpers.

Über die Lebensdauer der Ruhrbazillen in Wasser weichen die Angaben in der Literatur sehr voneinander ab, was wohl hauptsächlich dem Umstand zuzuschreiben ist, daß die Versuche unter verschiedenen Bedingungen, namentlich was Temperatur- und Lichtwirkung anlangt, vorgenommen wurden. Nach den Untersuchungen von Pfuhl (16) halten sich Ruhrbazillen in Wasser von 7 bis 10° C 9 Tage lang, in solchem von Zimmertemperatur 5 Tage, nach Karlinski (17) in nicht sterilem keimarmen Wasser bis zu 81 Tagen, nach Vincent (18) in sterilem destillierten Wasser 12 bis 14 Tage, in unreinem Flußwasser nur 2 bis 6 Tage lebensfähig. Dombrowski (25) konnte sie in sterilisiertem Leitungswasser noch nach 74 Tagen nachweisen. Meine Untersuchungen in dieser Richtung ergaben ebenfalls sehr wechselnde Resultate. Verwendet wurde zu allen diesen Versuchen der Stamm Nr. 23 Bew. Unter den gleichen äußeren Bedingungen, bei Zimmertemperatur unter Lichtabschluß aufbewahrt, ließen sich Ruhrbazillen in einem Falle noch nach



122 Tagen, in einem anderen Falle nur noch bis zu 15 Tagen im Leitungswasser nachweisen. Etwas Ähnliches beobachtete Pfuhl (16), der analoge Versuche mit Selterswasser anstellte. Bei einem Versuche hielten sich die Ruhrbazillen 27 Tage, bei einem anderen nur 15 Tage keimfähig. Er war geneigt, den Grund dieses wechselnden Verhaltens in der verschiedenen Zusammensetzung des Selterswassers zu suchen. Meine Versuche stellte ich an mit 1 Liter haltenden Glaskolben, die in der in Fig. 4 dargestellten Weise armiert waren. Es stellte sich nun bei den Versuchen die Tatsache heraus, daß je größer die anfängliche Zahl der keimfähigen Bazillen im Versuchskolben war, desto längere Zeit ließen sich lebende Individuen darin nachweisen. So wurden in einem Falle, in dem die Zahl der Bazillen bei Beginn des Versuches 800 000 pro 1 ccm betrug, bis zum 122. Tage lebende Bazillen gefunden. In einem anderen Falle mit einer Anfangszahl von 48 000 pro 1 ccm erwies sich das Wasser nach 15 Tagen steril. Eigentlich sollte man ja das umgekehrte Verhältnis erwarten, ausgehend von der Annahme, daß bei den im Leitungswasser vorhandenen geringen Mengen von Nahrungsstoffen eine kleine Anzahl Bazillen ihr Leben länger fristen könnte, als das Vielhundertfache ihrer Zahl. Es würde dieses anscheinend paradoxe Verhalten dann so zu erklären sein, daß eine Anzahl von besonders resistenten Individuen ihre Subsistenzmittel aus der Leibessubstanz ihrer massenhaft untergegangenen Genossen bezöge, es würde sich also ein ähnlicher Vorgang abspielen, wie er für die Bildung der Sekundärkolonien angenommen wurde.

Tabelle D.

Lebensdauer von Ruhrbazillen in sterilisiertem Leitungswasser.

Zahl der Tage	Zahl der keimfähigen Bazillen in 1 ccm:			
	Bei 37° C im Brutschrank	Bei Zimmertemperatur vor Licht geschützt	Dem diffusen Tageslicht ausgesetzt	Dem Sonnenlicht ausgesetzt
1	48 000	48 000	48 000	48 000
2	190	12 700	7 500	nach 5 Stunden
3	80	2 400	250	2500
4	8	240	11	nach 10 Stunden
5	4	207	2	0
7	0	45	0	—
9	—	10	—	—
11	—	9	—	—
12	—	5	—	—
15	—	2	—	—
16	—	0	—	—



Tabelle E.

Lebensdauer der Ruhrbazillen in Kleiderstoffen angetrocknet.

Zahl der Tage	Zahl der keimfähigen Bazillen pro qcm:					
	Bei Zimmertemperatur vor Licht geschützt	Bei Zimmertemperatur dem diffusen Tageslicht ausgesetzt	Bei 37° C im Brutschrank	Dem Sonnenlicht ausgesetzt	Dem Sonnenlicht ausgesetzt, aber mit einfacher Lage desselben Stoffes bedeckt	Bei Zimmertemperatur im Exsikkator vor Licht geschützt
1	8000	8000	8000	8000	8000	8000
5	3800	1308	800	nach $2^1/_2$ St.	nach $2^1/_2$ Stunden	1085
14	1600	350	240	2760	4800	850
22	1390	162	80	nach 5 Std.	nach 5 Stunden	225
27	600	25	9	0	3000	33
37	700	12	0	—	nach 10 Stunden	6
46	500	15	—	—	840	0
54	100	2	—	—	nach 15 Stunden	—
69	45	5	—	—	0	—
83	40	1	—	—	—	—
110	10	0	—	—	—	—
130	27	—	—	—	—	—
150	5	—	—	—	—	—
160	0	—	—	—	—	—

Über den Einfluß des Lichtes und der Temperatur auf die Lebensdauer von in sterilisiertem Leitungswasser suspendierten Bazillen gibt Tabelle D Aufschluß. Bemerkenswert ist hierbei die außerordentlich bakterizide Wirkung des direkten Sonnenlichtes. In nicht sterilisiertem Leitungswasser mit einem durchschnittlichen Keimgehalt von 30 Keimen pro 1 ccm waren keimfähige Ruhrbazillen unter den günstigsten Verhältnissen bis zu 9 Tagen nachweisbar. Bezüglich der Lebensdauer von Ruhrbazillen in Schrägagarkulturen ergaben sich folgende Resultate:

In direktem Sonnenlicht 10 Stunden, in diffusem Tageslicht bei Zimmertemperatur 20 Tage. Bei 37° im Brutschrank 11 Tage. In versiegelten Schrägagarkulturen, vor Licht geschützt aufbewahrt, zeigten sie nach 23 Monaten noch üppiges Wachstum. In Originalruhrstühlen, in denen sie fast in Reinkultur vorhanden waren, gingen sie in 9 Tagen, in künstlich mit Ruhrbazillen infiziertem Stuhl bei alkalischer Reaktion des letzteren in 6, bei schwach sauerer Reaktion in 4 Tagen zugrunde.

Des weiteren erstreckten sich meine Untersuchungen auf die Prüfung der Lebensfähigkeit von Ruhrbazillen, die in Kleiderstoffen angetrocknet waren. Zu diesen Versuchen wurden 200 qcm große Stücke des gleichen Stoffes zunächst in strömendem Wasserdampf gründlich durchfeuchtet,



sodann in einem größeren Gefäß mit Wasser, dem zentrifugierte Ruhrbazillenaufschwemmung zugesetzt war, durchtränkt, dann in großen Drigalskischalen horizontal ausgebreitet und bei Zimmertemperatur getrocknet. Man erreicht auf diese Weise eine gleichmäßige Verteilung der Bazillen innerhalb des Stoffes. Die Zahl der Bazillen pro 1 qcm Stoff wurde dann in der Weise bestimmt, daß 2 qcm des Stoffes in feinste Fasern zerschnitten und in 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung längere Zeit geschüttelt wurden. Nachdem sich dann die Fasern in dem Kölbchen zu Boden gesenkt hatten, wurde von der darüber stehenden Flüssigkeit 1 ccm zur Aussaat auf große Drigalskischalen mit Milchzuckeragar gebracht, und die Platten 24 Stunden im Brutschrank belassen. Bei einiger Übung gelingt es auf diese Weise leicht durch Zählen der auf den Platten gewachsenen leicht erkennbaren Ruhrkolonien ziemlich genaue Zahlenwerte zu erhalten. Das Resultat dieser Untersuchungen ist aus Tabelle E zu ersehen. Auffallend ist auch hier wieder das außerordentlich schnelle Absterben der Ruhrbazillen im Sonnenlicht. Meine Resultate decken sich in dieser Beziehung ungefähr mit den von Esmarch (19) bei seinen Untersuchungen über die Wirkung des Sonnenlichtes auf Typhusbazillen gefundenen Werten. Es scheint sich hierbei hauptsächlich um eine chemische, weniger um die thermische Wirkung der Sonnenstrahlen zu handeln. Meine Versuche stellte ich an bei einer Lufttemperatur von 0° C. Ein mit einer einfachen Lage des Versuchsstoffes umwickeltes Thermometer zeigte in der Sonne 25° C. Zwar wurde, wie aus Tabelle E ersichtlich ist, die bakterizide Wirkung des Sonnenlichtes durch Überdecken des infizierten Stoffes mit einer einfachen Lage des gleichen Stoffes bereits erheblich abgeschwächt, doch wurden auch bei diesem Versuche schon nach 15 Stunden sämtliche in dem Stoffe verteilten Ruhrbazillen abgetötet. Wenn wir nach diesen Versuchen in dem Sonnenlicht auch kein absolut sicher wirkendes Desinfektionsmittel besitzen, ein Übelstand, der aber auch vielen anderen Desinfektionsverfahren anhaftet, so müssen wir doch mit ihm als einem ganz erheblichen Faktor bei der Seuchenbekämpfung rechnen, und es ist dringend geboten, den Bewohnern eines von Typhus und Ruhr verseuchten Gebietes die gute alte Sitte, Betten und Kleidungsstücke zu sonnen, noch viel mehr, als es bisher geschieht, zu empfehlen.

Virulenz der Ruhrstämme.

Boten die einzelnen Ruhrstämme nach den bisherigen Untersuchungen in ihrem kulturellen und chemischen Verhalten erhebliche Unterschiede dar, so trat diese Erscheinung in noch höherem Maße bei der Untersuchung der Virulenz hervor. Die aus den Ausleerungen der Gehlsheimer



Ruhrkranken gezüchteten Stämme Nr. 23 bis 29, ferner die Stämme Nr. 20 und 21 zeigten eine relativ geringe Virulenz. Es gelang mit diesen Stämmen leicht Kaninchen an größere Dosen zu gewöhnen. Weiße Mäuse dagegen erlagen einer intraperitonealen Injektion von 1 mg einer 24 stündigen lebenden Agarkultur nach 10 Stunden. Der Sektionsbefund war stets der gleiche. Der After war verschmutzt und verklebt. Der untere Teil des Darmes war mit dünnflüssigen hellgelben schleimigen Fäkalmassen angefüllt, die Darmgefäße wiesen starke Blutfüllung auf. Bauchhöhlenexsudat war nicht vorhanden. Aus dem Blute und allen Organen ließ sich der zur Injektion verwandte Ruhrstamm züchten. Kaninchen vertrugen eine intravenöse Injektion von 1 mg Agarkultur relativ gut. Immer entwickelte sich danach das gleiche Krankheitsbild. Die Temperatur stieg regelmäßig in den nächsten 7 bis 9 Stunden auf 40 bis 41°, um im Verlaufe der folgenden Stunden rasch auf die normale abzusinken. Die Atmung erreichte zur Zeit der Höchsttemperatur eine Frequenz von 110 Atemzügen in der Minute, das Allgemeinbefinden war sichtlich gestört. Die Tiere erholten sich jedoch sehr bald. Nachkrankheiten entwickelten sich bei den mit diesen Stämmen behandelten Tieren nicht. Anders verhielten sich in dieser Beziehung die mit Flexnerschen Stämmen geimpften Versuchstiere. Zwar überstanden Kaninchen intravenöse Injektionen von 1 mg und nach Verlauf von weiteren 8 Tagen von 2 mg einer frischen Agarkultur unter starker Allgemeinreaktion des Körpers zunächst gut, doch stellte sich im Verlauf der nächsten Wochen und Monate ein ganz typisches Krankheitsbild ein. Die Tiere magerten hochgradig ab, saßen teilnahmslos mit hochgekrümmtem Rücken in einer Ecke des Stalles und bekamen eine immer stärker werdende Lähmung der hinteren Extremitäten. Hierzu gesellte sich in den letzten Lebenswochen auch noch Parese der Afterschließmuskeln. Die Sektion ergab in drei derartigen Fällen, erheblich vergrößerte Milz, geringes Exsudat in der Bauchhöhle, schwere parenchymatöse Nephritis und beträchtliche Mengen von Eiweiß im Urin.

Am virulentesten erwiesen sich die Stämme der echten Kruseschen Dysenterie. Diese Ansicht teilen mit Kruse die meisten Forscher bis auf vereinzelte Ausnahmen. So erwähnt Yonetaro Kikuchi (27), daß er Versuche mit zwei sehr wenig virulenten Kruse-Shigaschen Kulturen gemacht habe, von denen drei Agarkulturen intraperitoneal injiziert die tödliche Dosis für ein Meerschweinchen von 200 grm Gewicht darstellten. Bei Versuchen mit den mir zur Verfügung stehenden beiden Kruseschen Stämmen gingen Kaninchen nach intravenöser Injektion von $^1/_2$ mg einer 24 stündigen lebenden Agarkultur nach 16 Stunden ein. Die Temperatur stieg bereits 2 Stunden nach der Injektion auf 41°. Das Krankheitsbild



war im übrigen schon nach wenigen Stunden dasselbe, wie es die mit dem Stamm Flexner injizierten Tiere erst nach Wochen darboten, starke Lähmung der hinteren Extremitäten, fliegende Atmung und Zwerchfellkrämpfe, denen die Tiere in kurzer Zeit erlagen. Dysenteriebazillen konnten weder aus dem Blut noch aus den Organen gezüchtet werden, eine Erscheinung, die auch Kruse (11, S. 432) besonders hervorhebt. Bei einem anderen Versuch erhielt ein 3400 ^{grm} schweres Kaninchen $1/2\,^{mg}$ einer 1 Stunde bei 60° abgetöteten Agarkultur intravenös injiziert. Auch dieses Tier ging unter den gleichen Krankheitserscheinungen nach 5 Tagen ein. Die Sektion ergab folgenden Befund: Hämorrhagien im Perikard und in der Serosa des Magens, starke hämorrhagische Nephritis, Milzschwellung und starken Eiweißgehalt des Urins. Alle Versuche, die Virulenz der Kruseschen Dysenteriestämme durch ungünstige Wachstumsbedingungen abzuschwächen, schlugen fehl. So wurde der Stamm Nr. 4 10 Tage lange bei einer Temperatur von 42° fortgezüchtet, wodurch das Wachstum auf Schrägagar schließlich ein sehr kümmerliches wurde. Es genügte aber auch von dieser Kultur, die 1 Stunde bei 60° abgetötet worden war, 1 ^{mg} intravenös injiziert, um bei einem kräftigen Ziegenbock schon nach 24 Stunden schwere Vergiftungserscheinungen hervorzurufen. Als besonderes Krankheitssymptom trat bei diesem Tier eine am 3. Tage nach der Injektion sich einstellende Lähmung der Schlundmuskulatur in die Erscheinung. Das Futter wurde zwar mit dem Maul aufgenommen und auch genügend durchgekaut, jedoch vermochte das Tier nicht den Bissen hinunterzuschlucken. Versuche, das Tier durch Schlundsondenfütterung mit Milch am Leben zu erhalten, hatten nur wenige Tage Erfolg, am 9. Tage erlag es der Intoxikation. Der Agglutinationstiter des Blutes für den Stamm Kruse ging über 1 : 40 nicht hinaus. Da sich auf diese Weise ein zu Agglutinationsversuchen brauchbares Serum nicht gewinnen ließ, wurden weitere Versuche angestellt mit von Bakterienleibern befreiten Mazerationsflüssigkeiten abgetöteter Kulturen. Zu diesem Zwecke wurden acht 24stündige Schrägagarkulturen des Stammes Kruse Nr. 4 in 40 ^{ccm} physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, 2 Stunden bei 60° abgetötet, alsdann 48 Stunden bei 37° mazeriert und durch Tonfilter filtriert. Von diesem Filtrat wurden 2 ^{ccm} einem Ziegenbock intravenös injiziert. Das Tier zeigte danach keine erheblichen Krankheitserscheinungen. Der Agglutinationstiter des Blutes betrug am 8. Tage nach der Injektion für den Stamm Kruse 1 : 1000. Nach einer weiteren am 9. Tage vorgenommenen Injektion von 6 ^{ccm} des Filtrates stellten sich allerdings bei dem Tiere erhebliche Krankheitserscheinungen, hohes Fieber, Zittern und Unlust zum Fressen ein, es erholte sich jedoch am nächsten Tage vollkommen. Auf diese Weise gelang es nach vier weiteren in



Zeiträumen von 8 zu 8 Tagen vorgenommenen Injektionen von je 4 ccm einen Agglutinationstiter für den Stamm Kruse von 1 : 10 000 zu erzielen. Nach weiteren Injektionen sank der Titer dauernd herab. Irgendwelche Nachkrankheiten stellten sich bei dem Tiere während der nachfolgenden Beobachtungszeit von 5 Monaten nicht ein.

Im Gegensatz zu den Kruseschen Dysenteriestämmen gelang die Herstellung eines hochwertig agglutinierenden Serums für die Gehlsheimer, Flexnerschen und Nieterschen Stämme Nr. 20 und 21 leicht. Nach intravenöser Injektion von 1 mg einer nicht abgetöteten Agarkultur des Stammes Flexner, stieg der Agglutinationstiter bei einem Kaninchen am 8. Tage bereits auf 8000, um sich nach einer nochmaligen Injektion von 2 mg Agarkultur auf 39 000 zu erhöhen. Auf die gleiche Weise wurden hochwertige Kaninchensera gewonnen mit einem Titer von:

1 : 24 000	für	den	Stamm	Kessler	Nr.	20.
1 : 28 000	„	„	„	Bew.	„	23.
1 : 24 000	„	„	„	Will.	„	21.

Es weichen in dieser Beziehung meine Versuche in ihrem Ergebnis von denen Lüdkes (28) wesentlich ab. Lüdke erreichte nach einmaliger Injektion von $^1/_{20}$ Öse Agarkultur am 8. bis 12. Tage den Höchstwert des Agglutinationstiters, vermochte durch weitere Injektionen eine Erhöhung des Titers aber nicht mehr zu erzielen. Vielleicht sind diese unterschiedlichen Resultate auf die Menge des injizierten Materials zurückzuführen, da Lüdke die Injektionsdosis bei den nachfolgenden Injektionen nicht über die geringe Menge von $^1/_{20}$ Öse = $^1/_{10}$ mg steigerte.

Verhalten des Blutserums Ruhrkranker bezüglich der Agglutination.

Bezüglich der Mengen der im Blutserum Ruhrkranker gebildeten spezifischen Agglutinine weisen die Angaben in der Literatur erhebliche Unterschiede auf. Der Grund hierfür ist wohl darin zu suchen, daß das Blutserum zu verschieden langen Zeiten nach der Erkrankung entnommen wurde und wohl auch der Agglutinationsvorgang unter verschiedenen Bedingungen, was Zeit und Temperatur anlangt, beobachtet wurde. Kruse (29) nimmt im allgemeinen an, daß in leichten Krankheitsfällen die Agglutinine bereits nach 1 bis 2 Monaten aus dem Blute verschwinden. Bei den Gehlsheimer Fällen schwankte der Agglutinationstiter für den homologen Stamm zwischen 1 : 100 bis 1 : 500. Die Blutproben wurden gewöhnlich in der 3. Krankheitswoche entnommen. Bei den Schwierigkeiten, mit welchen die Blutentnahme bei Geisteskranken verbunden ist, mußte ich mich leider auf eine einmalige Blutuntersuchung beschränken.



Bei zwei Patienten der Anstalt, von denen der eine nachweislich vor 3, der andere vor 8 Monaten an Ruhr erkrankt gewesen war, betrug der Agglutinationstiter des Blutes für den Stamm Bew. 1:500 bzw. 1:600. Bei dem ebenso schwer wie schnell verlaufenden Fall Luecinska Nr. 35 wurde nach 3 Wochen der eigene Stamm durch das Blutserum noch in einer Verdünnung von 1:400 agglutiniert. In den beiden Fällen E. Bahl und K. Bahl zeigte das Blutserum 4 Wochen nach der Erkrankung in einer Verdünnung von 1:150 bzw. 1:600 für den eigenen und in einer Verdünnung von 1:80 bzw. 1:100 für den Stamm Kruse agglutinierende Wirkung. Den höchsten Agglutinationswert erreichte das Blutserum in den Dobbertiner Fällen.

Es agglutinierte das

Blutserum von	den Stamm	2 Wochen nach der Erkrankung in einer Verdünnung von	4 Wochen nach der Erkrankung in einer Verdünnung von
Dienstmädchen	Dobbertin	1 : 200	1 : 4000
Frl. A.	„	1 : 1000	1 : 3000
Frl. B. (St. Nr. 31) . .	„	1 : 800	1 : 1200

Den auffallendsten Befund ergab die Untersuchung des Blutserums eines von $1\frac{1}{2}$ Jahren in Südwestafrika an Ruhr 14 Tage lang schwer erkrankt gewesenen Oberarztes. Der Agglutinationstiter betrug für den Stamm Flexner 1:800, für den Stamm Bew. 1:40, für den Stamm Kruse 1:30. Leider konnte ich nicht ermitteln, ob der betreffende Herr vielleicht Bazillenträger geblieben war. Der Befund würde für das Vorkommen des Stammes Flexner in Südwestafrika sprechen, was nach Dansauer (30) und Bofinger (31) nicht der Fall sein soll.

Differenzierung der Ruhrbazillen durch Agglutination.

Die Schwierigkeit, welche die genaue Identifizierung der einzelnen Ruhrstämme bereitet und welche ein Kreuz für jeden bildet, der sich eingehender mit Ruhrbazillen beschäftigt, veranlaßten mich zu ausgedehnteren Versuchen nach dieser Richtung. Von dem Versuche, das Castellanische Absättigungsverfahren bei einer größeren Anzahl von Stämmen anzuwenden, nahm ich bald Abstand, weil die Unsicherheit der Ergebnisse der aufgewandten Mühe keineswegs entsprach. Auch Kruse, der sehr ausgedehnte Absättigungsversuche anstellte, gibt zu, daß das Castellanische Verfahren unsichere Resultate zeitige. Ich entschloß mich nun den Agglutinationstiter der fünf hochwertigen Sera der Stämme



Kessler, Bew, Flexner, Bremen und Kruse-Bonn für die 35 mir zur Verfügung stehenden Stämme zu bestimmen und zwar unter peinlichster Innehaltung einer stets gleichen Methode und gleicher Beobachtungszeiten, um vielleicht eine gewisse Gesetzmäßigkeit in den Agglutinationskurven festzustellen, die sich praktisch zur Identifizierung der einzelnen Stämme verwerten ließe. Zunächst einige Worte über die Art, wie die Versuche angestellt wurden. Die Blutentnahme bei den Kaninchen, die in der oben geschilderten Weise mit den einzelnen Stämmen vorbehandelt waren, erfolgte nach einer halbtägigen Hungerzeit aus der Randvene des Ohres. Das vollkommen klare Serum, welches sich nach 24 stündiger Aufbewahrung des Blutes bei niederer Temperatur ausschied, wurde ohne desinfizierende Zusätze in Glaskapillaren von 10 ^{cm} Länge und 4 ^{mm} lichter Weite eingefüllt, und die ausgezogenen Enden der Kapillaren zugeschmolzen. Ich habe mit dieser Art der Aufbewahrung des Serums die besten Erfahrungen gemacht und verwende jetzt noch zu Versuchen Serum, das bereits 3 Jahre alt ist. Die Agglutinationsproben wurden alle makroskopisch in Reagensgläsern angesetzt und zwar in der Weise, daß die Gesamtmenge der in dem Röhrchen befindlichen Flüssigkeit immer 1 ^{ccm} betrug. Die zu agglutinierenden Bakterien wurden dem Serum in Form einer zentrifugierten Aufschwemmung von Schrägagarkulturen in physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt. Die Röhrchen wurden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Beobachtung der Agglutination erfolgte nach 12, höchstens 16 Stunden zunächst makroskopisch und bei den höheren Verdünnungen, wo das Resultat zweifelhaft wurde, im hängenden Tropfen.

Als positiver Ausfall der Reaktion wurde das Vorhandensein von mindestens sechs aus vier und mehr Bakterien bestehenden Häufchen im Gesichtsfelde angesehen. Das Resultat der Untersuchungen ist aus den Tafeln III und IV zu ersehen (Nr. 74 und 75). Es ergibt sich daraus, daß die Gehlsheimer Stämme, sowie der Stamm Luecinska (Nr. 1 bis 9 und Nr. 11, Tafel III), der einem sporadischen Fall in Rostock entstammt, vollkommen identisch sind mit der Pseudodysenterie D. Hiermit stimmt auch das chemische Verhalten der Stämme überein. Dieser Gruppe vielleicht noch anzugliedern ist der Stamm H_2O (Nr. 23, Tafel III), der eine der Pseudodysenterie D sehr ähnliche Kurve aufweist. Des weiteren läßt sich aus der Form der Kurve die Identität, zum mindesten aber sehr nahe Verwandtschaft der Saarbrücker-Stämme (Nr. 14 bis 17, Tafel III) mit den Flexner-Stämmen nachweisen. Eine gleiche Kurve zeigen ferner die Stämme (Nr. 18 und 19, Tafel III). Abweichend hiervon, obwohl derselben Epidemie entstammend, verhält sich der Stamm Goolt. (Nr. 20, Tafel III). Wie ein Blick auf Tabelle A, Nr. 18



beweist, zeigt er auch in seinen chemischen Leistungen ein von den vorher erwähnten Stämmen abweichendes Verhalten. Große Übereinstimmung weisen ferner die Kurven der echten Dysenteriestämme (Nr. 24 bis 27, Tafel IV) auf. Sehr nahe miteinander verwandt sind auch die Stämme (Nr. 29 und 31, Tafel IV), dem entspricht auch ihr chemisches Verhalten. Vollkommen identisch erweisen sich durch die Form der Kurve die Stämme 34 und 35, Tafel IV, von denen einer aus Dobbertin, der andere aus Rostock stammt. Der Umstand, daß eine Anzahl Stämme ganz verschiedene Kurven aufweisen, nach denen sie sich in keine der obigen Gruppen einreihen lassen, ist meines Erachtens ein Beweis, daß sie besonderen Rassen angehören. Man könnte nun den Einwand erheben, daß diese letzterwähnten Stämme im Laufe der Zeit Veränderungen an ihrem Rezeptorenapparat erlitten hätten. Demgegenüber möchte ich erwähnen, daß ich im Verlaufe von $1^1/_2$ Jahren dreimal die Agglutinationsverhältnisse der 35 Stämme nachgeprüft habe und jedesmal die gleichen Kurven erhielt, abgesehen von kleinen, nicht in Betracht kommenden Differenzen, welche auf Beobachtungsfehler zurückzuführen sind. Es bestätigen diese Versuche die bereits von Lentz (32) geäußerte Anschauung von der Konstanz des Rezeptorenapparates. Da sich die von mir angewandte Methode zur Identifizierung der einzelnen Stämme zu bewähren scheint, möchte ich den Gedanken anregen, daß von einer Zentralstelle hochwertige Sera verschiedener Stämme hergestellt werden, mit denen dann nach einem genau festgelegten Modus die Agglutinationsversuche anzustellen wären. Vielleicht gelingt es auf diese Weise, durch Vergleichung der Kurven, einen Überblick zu gewinnen über die Zahl und Verbreitung der Ruhrrassen. Ob es bei weiterem Ausbau dieser Methode möglich sein wird, bei Ruhrfällen, die aller Wahrscheinlichkeit nach durch Bazillenträger verursacht sind, die gefundenen Bazillen mit denen des Bazillenträgers genau zu identifizieren und somit der Frage nach der rechtlichen Stellung der Bazillenträger einen Schritt näher zu kommen, muß weiterer Forschung vorbehalten bleiben.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Die chemischen und biologischen Eigenschaften der 35 zur Untersuchung gelangten Ruhrstämme erwiesen sich als konstant.

2. Ältere Ruhrkulturen bilden mit Vorliebe Sekundärkolonien, deren Individuen große Lebenszähigkeit besitzen.

3. Nicht nur die Pseudodysenterie-Stämme, einschließlich der Flexner-Stämme, sondern auch die Kruseschen echten Dysenterie-



Stämme zersetzen in erheblichem Grade Maltose, in geringerem Maße aber auch Milchzucker. Als Spaltungsprodukte werden daraus unter anderen erzeugt: Kohlensäure, Alkohol und Fettsäuren, insonderheit Buttersäure.

4. Farbumschläge der Lackmusnährböden sind für die Beurteilung der Zersetzungsvorgänge im Nährboden nur mit äußerster Vorsicht zu verwenden.

5. Die Konstanz der Eigenschaften der Ruhrbazillen erstreckt sich auch auf den Rezeptorenapparat.

Zur Frage der Paradysenterie.

Am Schluß meiner Arbeit sei es mir gestattet, noch über zwei Bakterienfunde zu berichten, die vielleicht geeignet sind, zur Klärung der Frage bezüglich der Paradysenterie beizutragen. Im November des Jahres 1907 wurden dem Institut von einem benachbarten Rittergut Milch- und Wasserproben übersandt zur Untersuchung auf Krankheitserreger, weil nach dem Genuß der in Frage stehenden Milch plötzlich eine ganze Anzahl der Gutsleute an zum Teil recht schweren Brechdurchfällen erkrankt war. Es gelang nun, aus der Milch und aus dem Wasser, das zum Spülen der Milchgefäße gedient hatte, auf Lackmusmilchzuckeragar einen Bacillus zu züchten, dessen blaue Kolonien sich von denen der Ruhrbazillen nicht unterschieden. Der Bacillus erwies sich als ein plumpes Kurzstäbchen ohne Eigenbewegung von dem Aussehen und den Größenverhältnissen der Ruhrbazillen. Gelatine wird durch ihn nicht verflüssigt, Milch auch nach mehreren Wochen nicht zur Gerinnung gebracht und Lackmusmolke ziemlich erheblich getrübt und schwach gerötet. Mannit- und Maltoseagarröhrchen zeigten nach 24 Stunden starke Rötung. In den nächsten Tagen trat aber ein allmählich immer deutlicher werdender Farbumschlag ein. Am 4. Tage wiesen die Röhrchen intensive Blaufärbung auf. Konnte dieser Bacillus nach dem geschilderten kulturellen Verhalten zur Gruppe der Ruhrbazillen gerechnet werden, so wich er durch seine Fähigkeit, Traubenzucker unter Gasbildung zu zersetzen, erheblich von dieser ab. Seine nahe Verwandtschaft mit der Gruppe der Ruhrbazillen ergab sich aber aus seinem Verhalten gegenüber den Ruhrtestseris. Er wurde durch diese in folgenden Verdünnungen agglutiniert:

Serum	Bew.	+ Stamm	Batz.		1 : 4000.
,,	Kessler	+	,,	,,	1 : 4000.
,,	Will	+	,,	,,	1 : 10000.
,,	Flexner-Bremen	+	,,	,,	1 : 5000.
,,	Kruse-Bonn	+	,,	,,	1 : 400.



Ein mit dem aus der Milch gezüchteten Stamm Batz. hergestelltes Kaninchentestserum mit einem Titer von 1:40 000 für den homologen Stamm agglutinierte die meisten Pseudoruhrstämme in einer Verdünnung von 1:2000 bis 1:4000, die echten Dysenteriestämme in Verdünnung von 1:20 bis 1:40. Durch normales Kaninchen- und Menschenserum wurde der Stamm in höheren Verdünnungen wie 1:20 nicht mehr agglutiniert. Die aus dem Wasser und der Milch gezüchteten Stämme erwiesen sich in chemischer und biologischer Hinsicht als vollkommen identisch. Aus einer wenige Tage später eingesandten Milchprobe konnte wiederum derselbe Bacillus, allerdings in geringerer Zahl wie das erste Mal, gezüchtet werden. Leider war es nicht möglich, von den Erkrankten Untersuchungsmaterial zu erhalten. Auf die Meldung von dem Nachweis ruhrverdächtiger Bazillen in den eingesandten Milch- und Wasserproben kam die Mitteilung, daß sämtliche Erkrankte bereits wieder genesen und Neuerkrankungen nicht mehr vorgekommen seien. Wenn sich nun auch mit Sicherheit der Nachweis nicht führen ließ, daß die gefundenen Bazillen in ätiologischer Beziehung zu den vorgekommenen Erkrankungen standen, so spricht doch zunächst der Umstand dafür, daß sie zweimal in der Milch, nach deren Genuß die Leute erkrankten, gefunden wurden, wohingegen sie in vielen anderen Milch- und Wasserproben, die im Institut zur Untersuchung gelangten, nicht nachgewiesen werden konnten.

Ferner macht sie auch ihre große Pathogenität für Tiere verdächtig. Weiße Mäuse von 20 ^{grm} Körpergewicht gingen nach einer intraperitonealen Einverleibung von $^{1}/_{10}$ ^{mg} einer 24 stündigen Agarkultur nach 10 Stunden ein. Die Sektion ergab folgenden Befund: After stark verunreinigt und verklebt. Bei Druck auf den Leib entleert sich aus der Afteröffnung dünnflüssiger rötlich gelber Inhalt, in dem durch die Häminprobe reichlich Blut nachgewiesen werden konnte. Darmgefäße stark mit Blut gefüllt, Schleimhaut des Darmes aufgelockert und mit rötlichem Schleim bedeckt. Aus dem Darminhalt sowie aus allen Organen ließ sich der zur Injektion verwandte Stamm Batz. züchten. An Verfütterung von auf Brot gestrichenen Agarkulturen gingen Mäuse nicht zugrunde, dagegen wurde mehrfach beobachtet, daß Mäuse, welche die Kadaver von mit Stamm Batz. infizierten Mäusen angefressen hatten, nach wenigen Tagen eingingen. Es ließ sich dann aus allen Organen der verendeten Tiere der Stamm Batz. züchten. Meerschweinchen von 350 ^{grm} Körpergewicht gingen nach intraperitonealer Injektion von 0·01 ^{grm} einer 16 stündigen Agarkultur nach 10 Stunden ein. Sektionsbefund: In der Bauchhöhle etwa 10 ^{ccm} einer klaren gelblichen Flüssigkeit, Peritoneum spärlich mit Fibringerinnsel bedeckt. Darmgefäße stark mit Blut gefüllt. Dünndarminhalt dünnflüssig, hellgelb, schleimig. Aus dem Bauchhöhlen-



exsudat, aus allen Organen, nicht aber aus dem Darminhalt ließ sich Stamm Batz. züchten. Fütterungsversuche verliefen bei Meerschweinchen negativ. Kaninchen, die zwecks Gewinnung von agglutinierendem Serum 1 mg einer 16stündigen Agarkultur intravenös injiziert erhielten, reagierten mit hohem Fieber, das 6 Stunden nach der Injektion 41° erreichte. Die Tiere machten einen sehr kranken Eindruck, magerten stark ab, erholten sich aber nach einigen Tagen vollkommen.

Ein zweiter dem oben beschriebenen sehr ähnlicher Bacillus wurde gelegentlich ausgedehnter systematischer Untersuchungen auf Typhusbazillen in dem Stuhl einer Patientin der Landesirrenanstalt Sachsenberg gefunden. Er ließ sich in kultureller Beziehung von dem Bacillus Batz. nicht unterscheiden, zersetzt auch wie dieser Traubenzucker unter Gasbildung und erwies sich für Mäuse und Meerschweinchen sehr pathogen. Nachforschungen bezüglich einer etwaigen vorausgegangenen ruhrartigen Erkrankung der Patientin ergaben negatives Resultat. Derselbe Bacillus wurde in einer 3 Tage später eingesandten Stuhlprobe der betreffenden Patientin wieder in großer Menge gefunden. Von den Ruhrseris wurde er in folgenden Verdünnungen agglutiniert:

Serum	Bew.	+	Stamm	Rk.	1:6000.
„	Flexner	+	„	„	1:5500.
„	Kessler	+	„	„	1:4000.
„	Batz.	+	„	„	1:3000.

Am bemerkenswertesten ist das Verhalten des Stammes Rk. gegenüber dem Blutserum der Patientin. Während er von den Seris vier gesunder Personen nur in einer Verdünnung 1:10 agglutiniert wurde, löste das Serum der Patientin selbst noch in einer Verdünnung von 1 : 500 agglutinierende Wirkung auf ihn aus. Hiernach muß man nach der heutigen Anschauung über die Bildung von Agglutininen annehmen, daß der Bacillus Rk. auf den Organismus der betreffenden Patientin eine erhebliche Reaktion ausgeübt hat.

Einen ähnlichen Bacillus fand Schmiedicke (23) in den Ausleerungen eines wegen Ruhrverdachtes in das Lazarett aufgenommenen Füsiliers während der Döberitzer Ruhrepidemie. Auch Kruse (24) erwähnt, daß er in letzter Zeit, teils bei Gesunden, teils bei an verschiedenen Darmkrankheiten Leidenden ähnliche Bazillen fand, die alle Übergänge zu Colibazillen zeigten. Vielleicht gehören hierher auch die von Deycke (6) während der Ruhrepidemie in Konstantinopel im Jahre 1899 aus den Ausleerungen Ruhrkranker gezüchteten Bazillen, die der Beschreibung nach mit den Bazillen Batz. und Rk. sehr große Ähnlichkeit haben.



Wenn man aus diesen beiden vereinzelten Fällen auch nicht mit Sicherheit auf eine für Menschen pathogene Wirkung dieser Abart von Ruhrbazillen, für die Kruse den Namen Pararuhrbazillen vorgeschlagen hat, schließen kann, so habe ich doch geglaubt, sie hier anführen zu dürfen, weil sie geeignet sind, für die Forschung in dieser Richtung geeignete Fingerzeige zu bieten.

Am Schlusse dieser Arbeit erfülle ich die angenehme Pflicht, meinem hochverehrten ehemaligen Chef, Hrn. Prof. Dr. Pfeiffer, meinen Dank auszusprechen für das Interesse, welches er meiner Arbeit entgegengebracht hat. Ferner danke ich Hrn. Dr. Reininghaus, ehemaligem I. Assistenten an der Abteilung für Lebensmitteluntersuchung, für die vielfache Unterstützung bei Ausführung der chemischen Analysen.



Literatur-Verzeichnis.

1. Kruse, Die Ruhr und ihre Bekämpfung. *Vierteljahrsschrift für öffentl. Gesundheitspflege.* 1905. Bd. XXXVII.

2. Celli und Fiocca, Über die Ätiologie der Dysenterie. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVII. S. 309.

3. Celli und Valentini, Nochmals über die Ätiologie der Dysenterie. *Ebenda.* 1894. Bd. XXV. S. 481.

4. Galli Valerio, Zur Ätiologie der menschlichen Dysenterie. *Ebenda.* 1896. Bd. XX. S. 901.

5. Janowski, Zur Ätiologie der Dysenterie. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. Bd. XXVII. S. 11.

6. Deycke, Zur Ätiologie der Dysenterie. *Ebenda.* 1901. Bd. XXVII. S. 11.

7. Nakao Abe, Über die Ätiologie der Dysenterie. *Archiv für Hygiene.* Bd. LXV. S. 106.

8. Haenisch, Über „Ruhr" in Irrenanstalten. *Diese Zeitschrift.* 1908. Bd. LX. S. 262.

9. Flexner, The Aetiologie of Tropical Dysentery. *Centralbl. f. Bakteriologie.* 1900. Bd. XXVIII. S. 624.

10. Shiga, Über den Dysenteriebacillus. *Ebenda.* 1898. Bd. XXIV. S. 816.

11. Kruse, Dysenterie und Pseudodysenterie. *Diese Zeitschrift.* 1907. Bd. LVII.

12. Preisz, Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXV. S. 280.

13. Eisenberg, Über sekundäre Bakterienkolonien. *Ebenda.* 1905. Bd. XL. S. 188.

14. Conradi, Uber lösliche durch aseptische Autolyse erhaltene Giftstoffe von Ruhr- und Typhusbazillen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1903. Bd. XXIX. S. 27.

15. Cohnheim, *Chemie der Eiweißkörper.* Braunschweig 1900.

16. Pfuhl, Vergleichende Untersuchungen über die Haltbarkeit der Ruhr- und Typhusbazillen außerhalb des menschlichen Körpers. *Diese Zeitschr.* Bd. XL. S. 563.

17. Karlinski, Über Serotherapie der Ruhr. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1906. Nr. 51. — Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XL. Ref. S. 175.

18. Vincent, Sur la vitalité du bacille dysentérique dans les eaux de boisson. Ref. *Ebenda.* 1908. Bd. XLI. Ref. S. 279.

19. v. Esmarch, Über Sonnendesinfektion. *Diese Zeitschrift.* Bd. XVI. S. 256.



20. Riemer, Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels des Micrococcus pyogenes aureus. *Habilitationsschrift.* München 1909. S. 17.

21. Lentz, Vergleichende Untersuchungen über die Ruhrbazillen und ruhrähnlichen Bakterien, nebst einigen Bemerkungen über den Lackmusfarbstoff. *Diese Zeitschrift.* Bd. XLI. S. 558.

22. Moreul et Rieux, Du bacille dysentérique, sa constance dans la dysentérie, ses charactères différentiels. *Comptes rendus hebdomadaires.* 1901. — Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1903. Bd. XXXII. S. 331.

23. Schmiedicke, Beobachtungen und Untersuchungen über die Ruhr. *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens.* 1902. Hft. 20.

24. Kruse, Neue Untersuchungen über die Ruhr. *Deutsche med. Wochenschr.* 1907. Bd. LIII.

25. Dombrowski, Zur Biologie der Ruhrbazillen. *Archiv für Hygiene.* 1903. Bd. XLVII.

26. Dörr, Beitrag zum Studium des Dysenteriebacillus. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1903. Bd. XXXIV. S. 385.

27. Yonetaro Kikuchi, Untersuchungen über den Shiga-Kruseschen Bacillus. *Archiv für Hygiene.* Bd. LII. S. 378.

28. Lüdke, Untersuchungen über die bazilläre Dysenterie. *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. XL. S. 291.

29. Kruse, Weitere Untersuchungen über die Ruhr und die Ruhrbazillen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. Bd. XXVII. S. 371.

30. Dansauer, Erfahrungen und Beobachtungen über die Ruhr in Südwestafrika. *Centralblatt für Bakteriologie.* Ref. Bd. XLI. S. 281.

31. Bofinger, Über die in Lüderitzbucht beobachteten Ruhrerkrankungen und ihre bakteriologische Untersuchung. *Ebenda.* Ref. Bd. XXXIX. S. 388.

32. Lentz, Weitere Beiträge zur Differenzierung des Shiga-Kruseschen und Flexnerschen Bacillus. *Diese Zeitschrift.* Bd. XLIII. S. 480.



[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
(Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Lentz.)

Über den Wert der Blutplattenmethoden zur Differentialdiagnose zwischen den Erregern der Cholera und ähnlichen Vibrionen.

Von

Huntemüller und **Ornstein**,
Assistenten des Instituts.

In einer jüngst erschienenen Arbeit[1] treten Kraus und seine Mitarbeiter wiederum für den Wert der Blutplattenmethode bei der Diagnosenstellung der Cholera ein. Nach Kraus sind „weder die ganz frisch isolierten Choleravibrionen, noch diejenigen im Laboratorium ein bis mehrere Jahre gezüchteten Stämme (37° gehalten) hämotoxisch". Die El Tor-Stämme, die Hämolyse zeigen, sind nach seiner Meinung keine echten Choleravibrionen und werden von ihm als Paracholera bezeichnet. Ob diese Stämme schon frisch, sofort nach der Züchtung, Hämolyse gezeigt haben, ist jedoch nicht erwiesen.

Die Ansicht von Kraus hat auf verschiedenen Seiten Widerspruch erfahren. R. Pfeiffer[2] fand unter 21 geprüften älteren Cholerakulturen 5, die auf der Hammel- oder Ziegenblutplatte fast ebenso stark hämolysierten, wie die El Tor-Stämme; unter 39 neugezüchteten fanden sich drei mit ausgesprochener Hämolysinbildung, von fünf frischen russischen Stämmen hämolysierte einer. Nach Bürgers[3] gaben von den während der Epidemie in Ostpreußen frisch isolierten Cholerastämmen sechs schon nach 24 Stunden

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1911. Nr. 32.
[2] *Klinisches Jahrbuch.* 1908.
[3] *Hygienische Rundschau.* 1910.



Hämolyse auf der Ziegenblutplatte, die übrigen nach 48 Stunden. Haendel und Woithe[1] fanden Hämolysinbildung nur bei älteren Laboratoriumsstämmen, frische Stämme gaben keine Hämolyse. Baerthlein[1], der dieselben Stämme ein Jahr später untersuchte, fand bei einem Stamm, der bei der Untersuchung von Haendel und Woithe nicht hämolytisch war, starke Hämolysinbildung, während ein früher hämolysierender Stamm jetzt keine Hämolyse zeigte. Ein frischer Stamm, Ruhleben I, welcher seinerzeit von uns an Baerthlein abgegeben war, zeigte ein kräftiges zum mindesten ebenso starkes Hämolysierungsvermögen wie die El Tor-Kulturen. Nach Kraus „dürfte dieser Stamm in die Gruppe der El Tor-Vibrionen einzureihen sein.“ Auch die von Mühlens und von Raven[2] als Hämolysinbildner festgestellten Stämme glaubt Kraus den El Tor-Vibrionen zuzählen zu müssen.

Alle diese hämolysierenden Stämme sind aber aus typischen Cholerafällen gezüchtet und geben alle biologischen Merkmale der Choleravibrionen, in gleicher Weise wie die El Tor-Vibrionen, die aus dem Dünndarminhalt von an Dysenterie gestorbenen Mekkapilgern isoliert wurden.

Der Stamm Ruhleben I (Baerthlein) ist aber noch in anderer Hinsicht von Interesse. Es handelte sich in Ruhleben um zwei Cholerafälle von Auswanderern und zwar einen Mann und eine Frau. Der Mann erkrankte zuerst und starb nach einigen Tagen, die Frau, die ihn pflegte, erkrankte 3 Tage später und starb in 24 Stunden. Man muß annehmen, daß sie sich bei der Pflege des Mannes oder doch aus derselben Quelle infiziert hat, da diese beiden Fälle völlig isoliert vorkamen. Nun ist Ruhleben I (Mann) hämolytisch, Ruhleben II (Frau) nicht.

Das Hämolysinbildungsvermögen hat der Stamm I, wie wir feststellen konnten, mehr und mehr verloren (s. Tabelle). Das gleiche konnten wir bei einem anderen Stamm, Stettin, feststellen, der frisch gezüchtet schon nach 24 Stunden starke Hämolyse zeigte. Beide Vibrionen wurden 1909 bzw. 1910 aus sporadischen Cholerafällen gezüchtet, zu deren Feststellung nach Kraus die Blutplattenmethode besonders geeignet ist, die biologischen Methoden zu ergänzen.

Nun hat der eine von uns (Huntemüller) gezeigt, daß es sich bei der Hämolysinbildung der Choleravibrionen nicht um qualitative, sondern nur um quantitative Unterschiede handelt, und daß bei längerer Beobachtungszeit (nicht nur 24 Stunden, sondern bis zu 6 mal 24 Stunden) eine große Zahl der Cholerastämme auf der Hammelblutplatte Hämotoxinbildung erkennen läßt, ebenso wie sich bei den Tetanus- und Diphtherie-

[1] *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1910 u. 1911.

[2] *Diese Zeitschrift.* 1906.

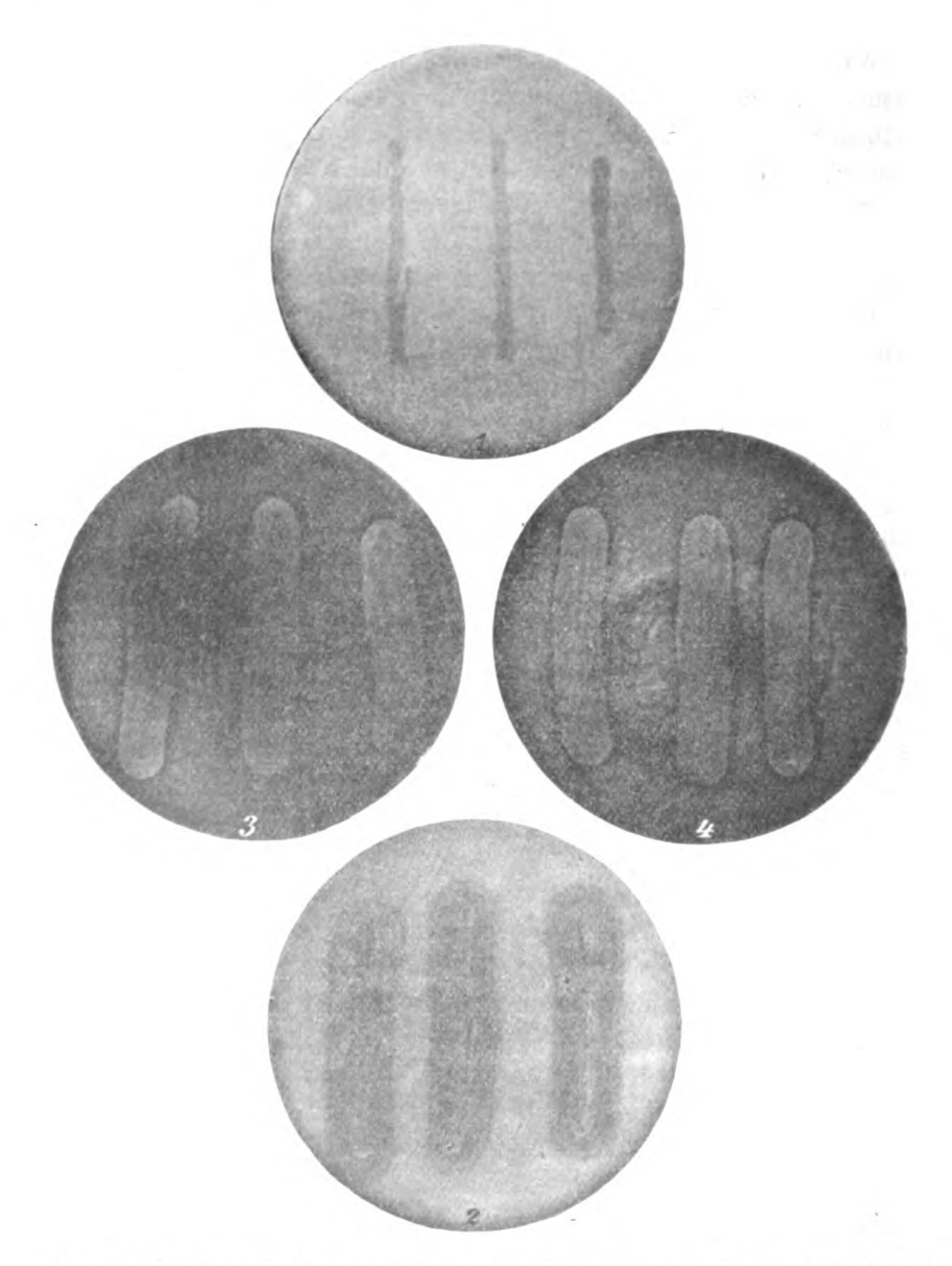


Fig. 1. Platte nach **Huntemüller** mit nicht hämolysierenden Choleravibrionen beimpft.

Fig. 2. Eine gleiche mit einem hämolysierenden Stamme beimpft.

Fig. 3. Eine Krausplatte (defibriniertes Blut 1 : 20 Agar enthaltend).

Fig. 4. Eine gleiche (defibriniertes Blut 2 : 10 Agar enthaltend).

Tabelle.

	Platte nach 24^h		Platte nach 2×24^h		Platte nach 3×24^h		Platte nach 4×24^h	
	Huntemüller	Kraus	Huntemüller	Kraus	Huntemüller	Kraus	Huntemüller	Kraus
El Tor V vir.	+++	+++						
Chol. 70 vir.	+++	+++						
„ 74 „	+++	+++						
„ 78 „	+++	+++						
„ 86 Sammlung	+++	+++						
„ 701 „	+++	+++						
„ Ruhleben I	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ II	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Kronstadt I	—	—	++	+	+++	++	+++	+++
„ „ II	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ III	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Grete-Milz	—	—	++	+	+++	+++		
„ Hofmann, Wien	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Held	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Sarno Mann	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Stettin	—	—	+++	+++				
„ Gami 7	—	—	—	—	++	+	++	++
„ „ 8	—	—	—	—	+	—	++	+
Staphylococcus aureus	+	—	++	+	++	++		
Bacterium coli	—	—	—	—	—	—	—	—
„ typhus	—	—	—	—	—	—	—	—
„ paratyphus A	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ B	—	—	—	—	—	—	—	—
„ dysenter. Flexner	—	—	—	—	—	—	—	—

— keine, + beginnende, ++ deutliche, +++ breite, helle Hofbildung um die Impfstelle.

bazillen verschiedene Grade der Giftbildung finden. Kraus glaubt die Ursache dieser, den seinen widersprechenden Befunde in der verschiedenen Methodik gefunden zu haben. Wir haben daher einige unserer Stämme nochmals auf den nach Kraus und nach unseren Angaben hergestellten Platten geprüft.

Die Tabelle zeigt, daß die Hämolysinbildung auf unseren Platten, die eine geringere Menge Blutkörperchen (0·5 Prozent) enthalten, stärker und früher auftritt als auf den Krausschen Platten, die nach seiner Methode 5 bis 10 Prozent, d. h. nicht einmal stets die gleiche Menge defibrinierten Blutes enthalten und daher zu vergleichenden Untersuchungen von vornherein nicht sehr empfehlenswert erscheinen.

Von anderen geprüften Bakterien konnten wir nur bei einem Staphylokokkenstamm auf unserer und später auch auf der Krausschen Platte Hämolyse nachweisen. Von anderen Bakterien, die wir nach Kraus' Beispiel zur Kontrolle heranzogen, riefen besonders Bact. coli-Arten wohl ein diffuses Abblassen unserer Platten hervor, aber nirgends sahen wir einen scharf umgrenzten glashellen, völlig durchsichtigen Hof um den Impfstrich, wie wir ihn bei den hämotoxischen Stämmen stets beobachten konnten (vgl. die Abbildung). Jenes Abblassen fand sich auch bei den Cholerastämmen, bei denen wir eine Hämolyse nicht nachweisen konnten. Kraus hat bei unseren Platten, bei der Beimpfung mit anderen nicht-hämotoxischen Bakterien anscheinend auch keine Zonenbildung erhalten, sondern nach 24 Stunden stellenweise Aufhellung, die nach 48 Stunden noch viel ausgesprochener war.

Wenn Kraus seine Cholerastämme zur Prüfung der Hämotoxinbildung auf der Blutplatte nicht nur 48 Stunden, sondern längere Zeit beobachtete, würden sich seine Befunde jedenfalls mit den unseren decken. Wie weit sie allenfalls durch das ständige Verweilen der Sammlung bei 37° eine Änderung erfahren mußten, bleibt unentschieden. Unsere Sammlungsstämme werden nach 24stündiger Bebrütung im 37°-Schrank im Eisschrank gehalten.

Zusammenfassung.

Unsere Untersuchungen, die ja nicht allein stehen, haben zur Genüge gezeigt, daß sich sowohl zu Epidemiezeiten als auch aus sporadischen, typischen Cholerafällen Vibrionen züchten lassen, die alle biologischen Merkmale der Choleravibrionen geben und auf der Hammelblutplatte hämolytisch wirken. Die Blutplattenmethode ist daher zur Diagnosestellung der Cholera nicht zu verwerten.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität Leipzig.]
(Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Hofmann.)

Weitere Studien über den Bakteriennachweis mit dem Berkefeldfilter.

Von

Dr. **Erich Hesse**,
Oberarzt im 11. Infanterie-Regiment Nr. 139, kommandiert zum Institut.

Bei den früheren Versuchen, die ich mit dem Berkefeldfilter zum Nachweis von Bakterien im Wasser angestellt habe[1], gelang es mir, im Durchschnitt 42 Prozent der Aussaat in der Rückspülflüssigkeit wieder aufzufinden. Wenn ich mit diesem Ergebnis, besonders mit Rücksicht auf die äußerst günstigen Erfolge, die ich bei Untersuchung großer Wassermengen (bis zu 10 Liter) oder mit einer sehr geringen Einsaatmenge (3 Keime in 2 Litern) zu verzeichnen hatte, recht zufrieden sein durfte, wenn sich bei meinen Parallelversuchen diese Methode vor den anderen gebräuchlichen durch Einfachheit, Sicherheit und Schnelligkeit auszeichnete, so bestand doch in Punkt 6 der Zusammenfassung meiner früheren Arbeit (S. 551): „die den Versuchen dienenden Kerzen müssen auf ihre Brauchbarkeit stets erst ausprobiert werden und erheischen auch weiterhin ständige Kontrolle" eine Schwierigkeit, durch deren Beseitigung der Wert der Methode in erheblicher Weise gesteigert werden konnte.

Auf Grund der Untersuchungen P. Schmidts[2] durften die Kerzen bei meiner Versuchsanordnung für die von mir verwandten Bakterien als

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. LXIX. S. 522 ff.

[2] P. Schmidt. Über den Mechanismus der Bakterienfiltration mit Berkefeldfiltern. *Ebenda.* Bd. LXV. S. 423 ff.



nahezu undurchlässig angesehen werden; auch mir ist es nie gelungen, bei recht schlecht ausgefallenen Versuchen die fehlenden Bakterien im Filtrat wiederzufinden. Die Ursache ungünstiger Ergebnisse mußte also im Bau der oberflächlichen Schichten der „schlecht arbeitenden“ Kerzen zu suchen sein. Wie P. Schmidt an Kerzendünnschliffen beobachten konnte, sind auf der Oberfläche der Filterkörper trichterartige Einsenkungen von 10 bis 20 μ Tiefe vorhanden. Im Innern der Kerze konnten ferner Hohlräume und Spalten nachgewiesen werden, die ein Lumen von 2 bis 100 μ hatten. Wenn auch in den Schliffen eine Kommunikation zwischen den oberflächlichen Trichtern und den inneren Hohlräumen nicht bemerkt werden konnte, so ist eine solche bei der Dicke der Schliffe (20 μ) doch keineswegs auszuschließen. Leicht verständlich ist es, daß im Bereich einer solchen Vertiefung, die eine längere Fortsetzung in das Innere der Kerze hat, die Strömung bei der Filtration eine schnellere sein kann, daß infolgedessen gerade an dieser Stelle mehr Bakterien in die Tiefe gerissen und dort so fest eingelagert werden, daß die nachträgliche rückläufige Spülung nicht imstande ist, sie zu entfernen. Es wird also deshalb ein mehr oder weniger großer Teil der Bakterien dem Nachweis entzogen.

Aufbauend auf diesen Erwägungen hatte ich früher schon mehrere Versuche mit Kerzen gemacht, die vor Gebrauch mit einer sterilen Aufschwemmung abgetöteter Bakterien verstopft worden waren; ich konnte mich von irgend einem Vorteil dieses Verfahrens nicht überzeugen (S. 549). Wohl waren die Kerzen verstopft, denn ihre Filtrationsgeschwindigkeit war in deutlicher Weise verlangsamt, aber bei rückläufiger Spülung konnten eben nicht mehr Keime nachgewiesen werden als ohne diese Vorbehandlung. Der Mißerfolg war wohl darauf zurückzuführen, daß die abgetöteten Bakterienleiber infolge des auf ihnen lastenden Druckes von annähernd 1 Atmosphäre zu einer klebrigen Cuticula (Schmidt) zusammengepreßt wurden, Poren und Trichter ausfüllten und sich mit den abzufiltrierenden lebenden Keimen ebenso innig verbanden. Die dann folgende rückläufige Spülung war wohl imstande, die oberflächlich niedergeschlagenen Individuen zu entfernen, verfehlte aber jede Wirkung auf die in den Vertiefungen sitzenden fest zusammengeballten Pfröpfe. Und gerade hier konnten nach den oben angestellten Betrachtungen recht zahlreiche Bakterien vorhanden sein.

Mündliche und schriftliche Besprechungen mit dem Direktor der Berkefeldfilter-Gesellschaft, Hrn. Endler in Celle, dem ich auch für die liebenswürdige Überlassung von geschlämmter Kieselgur, Kerzen und eines Apparates zur Filtration unter Druck meinen ergebensten Dank an dieser Stelle aussprechen möchte, veranlaßten mich zu dem Versuch, der

zu filtrierenden Bakterienaufschwemmung Kieselgur feinster Sorte (geschlämmt) zuzusetzen.

Einige vorbereitende Versuche galten zunächst der Ermittelung von gut und ausgesucht schlecht arbeitenden Kerzen. Letztere lieferten bei dem üblichen Verfahren und unter Verwendung 18stündiger Colibouillonkultur 12 Prozent der ausgesäten Bakterienmenge, die gut arbeitenden 46 Prozent. Die Verdünnungen wurden wie bei den früheren Versuchen mit steriler physiologischer Kochsalzlösung, der $^1/_2$ Prozent Bouillon zugesetzt war, mit Tropfgläsern hergestellt. Als Nährboden diente für Versuche und Zählplatten Drigalski-Conradi-Agar.

Versuche mit Kieselgurzusatz.

Zunächst wurden die ausgesucht schlechten Kerzen verwandt.

a) Verarbeitung mit dem Tropfglas.[1]

Versuch 1. 1 Liter wird mit 257 Colibazillen infiziert. Filtration durch **Kerze I.** Rückläufige Spülung mit 20 ^{ccm}. Verarbeitung eines Teiles der Rückspülflüssigkeit. Resultat: 14 Prozent.

Versuch 2. 1 Liter wird mit 200 Colibazillen infiziert und mit 1·0^{grm} steriler Kieselgur versetzt. Es entsteht eine gleichmäßig getrübte Flüssigkeit, aus der sich beim Stehen einzelne gröbere Partikelchen absetzen. Filtration durch **Kerze I.** Rückläufige Spülung mit 28^{ccm}. Resultat: 137 Proz.

Versuch 3. 1 Liter wird mit 200 Colibazillen infiziert. Filtration durch **Kerze IV.** Rückläufige Spülung mit 20^{ccm}. Resultat: 7·5 Prozent.

Versuch 4. 1 Liter wird mit 257 Colibazillen infiziert und mit 1·0^{grm} steriler Kieselgur versetzt. Filtration durch **Kerze IV.** Rückläufige Spülung mit 20^{ccm}. Resultat: 70 Prozent.

Wenn diese vier Versuche zunächst darlegen, **daß unter Verwendung von Kieselgur eine ganz erhebliche Vermehrung der Zahl** der wiedergefundenen Keime eintritt, so geht andererseits aus ihnen hervor, daß die Anwendung der Tropfglasmethode zum Beschicken der Platten mit der Rückspülflüssigkeit unzweckmäßig ist.

Beim rückläufigen Spülen heben sich der die ganze Kerze überziehende Mantel von Kieselgur und somit die in ihm befindlichen Bakterien ab. Man hat also bei einer Rückspülmenge von 20^{ccm} in ihr 1·0^{grm} Kieselgur suspendiert. Diese Flüssigkeit ist nach kräftigem Umschütteln völlig undurchsichtig. In der Ruhe fallen aber fast augenblicklich so erhebliche Mengen von Kieselgur zu Boden, daß man das Tropfglas nach einer Entnahme von höchstens zwei Tropfen von neuem schütteln muß. Mit ungleicher Verteilung der Kieselgur geht

[1] Siehe *diese Zeitschrift.* Bd. LXIX. S. 532 ff.



aber ungleiche Verteilung der Bakterien Hand in Hand. Es ist daher völlig unmöglich, wie ich an einer Anzahl von Platten feststellen konnte, in einer bestimmten Tropfenzahl auch nur annähernd die gleiche Menge von Keimen wiederzufinden. Daher in dem einen Fall 137 Prozent der Aussaat, im anderen Fall vielleicht, wie die späteren besseren Erfolge vermuten lassen, aus dem gleichen Grunde nur 70 Prozent. Zudem tritt durch gröbere Kieselgurpartikelchen sehr leicht eine Verstopfung der Tropfglasausflußöffnung ein. Ich entschloß mich daher, angesichts dieser ungünstigen Momente in Zukunft den Rückstoß direkt auf Drigalski zu verarbeiten.

Ich möchte hier einige Beobachtungen über die mit Kieselguraufschwemmung beschickten Drigalskiplatten vorausschicken.

Bei der Tropfglasmethode, wo z. B. von 20 ^{ccm}, die 1·0 ^{grm} Kieselgur enthielten, nur je 1 ^{ccm} auf die Platten verarbeitet wurde, waren die Platten nur mit einem zarten Schleier von Kieselgur überzogen.

Die direkte Verarbeitung des Rückstoßes, bei der das auf den ersten Kolbenstoß in toto entfernte gesamte Material der α-Platte zugeführt wird, bedingt einen ziemlich dicken Belag, der das Auszählen der Kolonien von der Rückseite aus erschwert. Außerdem können infolge der Dicke der Schicht die an ihrer Oberfläche gelegenen Keime dem eigentlichen Nährboden soweit entrückt sein, daß ihr Aufgehen in Frage gestellt wird. Ich verwandte daher bei den folgenden Versuchen geringere Kieselgurmengen von 0·5 bis 0·05 ^{grm}, und wie sich herausstellte, mit bestem Erfolg.

Wie ich schon erwähnte, überzieht sich die Kerze während der Filtration, deren Dauer durch den Kieselgurzusatz kaum beeinträchtigt wird, mit einem feinen Mantel schlammiger Masse, die sich bei rückläufiger Spülung sofort abhebt. Wie die Versuche im einzelnen zeigten, läßt sich tatsächlich beim ersten Kolbenstoß mit etwa 2 ^{ccm} Wasser das gesamte Bakterienmaterial entfernen. Platte β und γ zeigen meist nur noch vereinzelte Kolonien — sofern für jede Platte ein neuer Spatel verwandt wird.

Kieselgurmengen von 0·5 ^{grm} abwärts beeinträchtigen die Übersichtlichkeit der Platten kaum, solche von 0·1 ^{grm} liefern tadellose Platten, deren Oberfläche nur leicht getrübt erscheint. Ein sehr angenehmer Nebenumstand bei der Kieselgurmethode ist darin zu erblicken, daß infolge der fein verteilten Partikelchen der Substanz eine sehr große Oberfläche geschaffen wird, die die Verdunstung und somit das Trocknen der Platten in einer hervorragenden Weise befördert. Sehr interessant ist ferner die Beobachtung, daß sämtliche Colikolonien eine bis mehrere Gasblasen an ihrer Oberfläche tragen, wahrscheinlich da-



durch bedingt, daß die Eiweißstoffe des Nährbodens mit der Kieselgur bei der Eintrocknung ein Häutchen bilden, durch das die bei der Vergärung des in dem Nährboden vorhandenen Milchzuckers entstehende Kohlensäure nicht entweichen kann. Bei anderen durch zufällige Verunreinigungen bedingten Kolonien war eine Gasbildung nicht zu beobachten (weil diese eben den Zucker nicht vergären).

b) Verarbeitung direkt auf Drigalski.

Die nachstehende Tabelle gibt in Kürze die Resultate der angestellten Versuche mit direkter Verarbeitung des Rückstoßes auf die Drigalskiplatten wieder. Die Bezeichnungen „gut" und „schlecht" beziehen sich auf die Brauchbarkeit der Kerzen zum Bakteriennachweis ohne Kieselgur. Die Menge der jeweilig in Anwendung gebrachten Kieselgur findet sich in Klammern hinter der Prozentzahl.

Kerze Nr.	I (schlecht)		IV (schlecht)		VI (schlecht)		II (gut)		III (gut)	
	mit Kieselgur	ohne Kieselgur	mit Kieselgur	ohne Kieselgur	mit Kieselgur	ohne Kieselgur	mit Kieselgur	ohne Kieselgur	mit Kieselgur	ohne Kieselgur
Prozentzahl der wiedergefund. Keime	78 (0·1)	14	109 (0·3)	7·3	80 (0·1)	13	71 (0·05)	21	77 (0·05)	21
	73 (0·1)	10	88 (0·5)	7·5	100 (0·1)	5	75 (0·05)	74	120 (0·05)	69
	82 (0·25)	32		19	100 (0·3)		89 (0·3)		96 (0·3)	
	100 (0·3)	6		9	96 (0·5)					
	88 (0·5)			10	109 (0·5)					
	100 (0·5)									
Durchschnitt Prozent	87	15	98	11	97	9	78	47	98	45

Wie aus diesen Zahlen einwandfrei hervorgeht, ist bei Verwendung eines Zusatzes von Kieselgur die früher unbedingt notwendige Auswahl geeigneter Kerzen absolut überflüssig. Selbst die ohne Kieselgur am schlechtesten arbeitenden Kerzen lassen mit dieser Modifikation im Durchschnitt über 92 Prozent der ausgesäten Bakterienmenge wiederfinden (ohne Kieselgur 12 Prozent). Der Unterschied bei gut arbeitenden Kerzen muß naturgemäß, wie auch die Tabelle zeigt, erheblich geringer sein. Wenn bei der Kerze II trotz Kieselgurzusatz nur 78 Prozent der Aussaat im Durchschnitt wiedergefunden werden konnten, so dürfte der Grund in der Anwendung der sehr geringen Menge



von 0·05 ^{grm} zu suchen sein. Ich möchte sowohl auf Grund der Zahlenergebnisse wie auch anderer Beobachtungen, die ich bei den Versuchen machen konnte, eine Menge von 0·1 ^{grm} für die angewandte Kerzengröße für die geeigneteste halten. Denn nur die Größe der Kerze kann für die notwendige Menge der Kieselgur ausschlaggebend sein, nicht etwa das Quantum der zu filtrierenden Flüssigkeit.

Wenn es vielleicht auf den ersten Blick etwas bedenklich erscheinen mag, daß ich für die prozentuale Berechnung auch die Versuche, wo bis zu 120 Prozent der Aussaat wiedergefunden wurden, mit verwandt habe, so möchte ich das mit folgenden Tatsachen rechtfertigen: Die Prozentberechnung wurde auf Grund gleichzeitig angelegter Zählplatten vorgenommen. Es wurden bei jedem Versuch mehrfach 1 ^{ccm} der letzten Verdünnungsstufe (aus dem Tropfglas, mit dem das zu filtrierende Wasser infiziert wurde) auf Drigalskiplatten gebracht und die aufgegangenen Kolonien am nächsten Tag gezählt. Ihre Zahl auf den verschiedenen Platten war trotz intensivsten Durchschüttelns der verwandten Flüssigkeit nie die gleiche, sie differierte bisweilen um 30 Prozent. Da nun die Keimzahl in der zur Infektion des zu untersuchenden Wassers benutzten Tropfenzahl denselben Schwankungen unterliegen muß, so kann eben tatsächlich die Zahl der eingesäten Keime in einem Fall eine größere sein und im Vergleich zu den Zählplatten 120 Prozent betragen. Was aber einmal an Material zu viel zugesetzt wird, kann ein anderes Mal (aus dem gleichen Grunde) fehlen und dadurch einen schlechteren Prozentsatz bedingen.

Es ist daher, da die weniger guten Zahlen verrechnet werden müssen, bzw. ihr ursächlicher Zusammenhang mit schlecht verteiltem Ausgangsmaterial nicht nachgewiesen werden kann, notwendig, ihnen die über 100 Prozent betragenden Resultate gegenüberzustellen.

Das Gesamtergebnis der mit Kieselgur wiedergefundenen Keime konnte ich demnach bei obigen 19 Versuchen auf 91 Prozent berechnen. Daß dieses sehr günstige Resultat tatsächlich nur auf die Möglichkeit zurückzuführen ist, mit der Kieselgurhaube die darin locker eingeschwemmten Bakterien, und zwar auf den ersten Kolbenstoß, nahezu vollständig zu entfernen, daß insonderheit nicht etwa mangelhafte Bakteriendichtheit der Kerze die Schuld an einem schlechten Resultat trägt, beweist, daß ich auch in einem Fall, wo ich mit der sehr schlecht arbeitenden Kerze I ohne Kieselgur nur 6 Prozent der Aussaat wiederfand, in dem steril aufgefangenen Filtrat auch



nach längerer Brutofenbehandlung keine Colibazillen nachweisen konnte.

Verschieden große Einsaatmengen konnten mir darlegen, daß auch bei einem geringen Keimgehalt die Ergebnisse ebenso günstig ausfallen.

Den in meiner vorigen Arbeit erwähnten „Rest", der bei geringer Einsaat unter Umständen eine nicht zu vernachlässigende Menge von Keimen enthalten kann, schaltete ich dadurch aus, daß ich die abdichtende Gummischeibe zwischen Kerze und Glaszylinder parallel zu ihrer Peripherie um etwa 3 mm verkleinerte. Der Rest wird dann durch die Bodenfläche der Kerze vollständig abgesaugt.

Die von mir verwandte geschlämmte Kieselgur wurde in abgewogenen Dosen vor Gebrauch im Trockenschrank 1 Stunde bei 150° sterilisiert. Im Interesse gleichmäßiger Verteilung, die nur nach völliger Benetzung der feinen lufthaltigen Elemente möglich ist, erwies es sich als notwendig, die jeweilige Menge in einem Kölbchen mit etwa 50 ccm steriler Kochsalzlösung aufzukochen und diese erst dann gleichmäßig getrübte Flüssigkeit (nach dem Erkalten) dem zu filtrierenden Wasser zuzusetzen.

Filtration unter Druck.

Wenn durch den Kieselgurzusatz die Nachweismethode von Bakterien im Wasser um mehr als das Doppelte in ihrer Leistungsfähigkeit gesteigert worden ist, so liegt der Schwerpunkt der Bedeutung vor allem in dem Umstand, daß auf diese Weise jede, auch eine nach früherer Ansicht unbrauchbare Kerze die gleichen guten Resultate liefert.

Ich hatte bereits in meiner ersten Arbeit auf den Wert der Methode zur Bestimmung des Colititers bei Talsperren- oder filtrierten Flußwässern hingewiesen. Ich hatte damals daran gedacht, ob nicht eine Vorrichtung konstruiert werden könnte, die, an einem Wasserleitungshahn befestigt, direkt durch den natürlichen Wasserdruck (an Stelle der Saugstrahlpumpe) die Filtration vorzunehmen gestattete. Die Berkefeldfilter-Gesellschaft stellte mir einen nach diesen Gesichtspunkten angefertigten sehr handlichen Apparat zur Verfügung. Er besteht aus einem oben konisch verengten Metallzylinder von 11 cm Höhe, 6 cm Durchmesser und etwa 270 ccm Inhalt. Durch einen mit Klemmschraube versehenen Druckschlauch kann der Zylinder, das konische Ende nach oben gekehrt, absolut dicht mit dem Wasserleitungshahn verbunden werden. Das unten offene Ende des Zylinders wird durch eine in der Mitte durchbohrte Metallscheibe mit Gummidichtung durch zwei Flügelschrauben ver-



schlossen. Im Innern findet sich die Berkefeldkerze, deren Ausflußzapfen durch die Bohrung des Metallbodens herausragt und hier in der üblichen Weise durch eine Schraubenmutter gehalten wird. Läßt man, nachdem der Zylinder vor der Befestigung zur Entfernung der natürlich störenden Luft mit Wasser gefüllt ist, durch Anstellen der Leitung Wasser nachströmen, so wird der natürliche Druck dieses durch die Kerze pressen und die etwa vorhandenen Keime müssen sich auf der Kerzenoberfläche niederschlagen. Von hier werden sie durch rückläufige Spülung, nachdem der Boden des Zylinders samt der Berkefeldkerze herausgenommen ist, entfernt und in entsprechender Weise weiter verarbeitet.

Bei eingehender Erwägung dieser Methode glaubte ich aber bereits in dem Umstand einen bedenklichen Faktor erblicken zu müssen, daß, während ich bei meinen bisherigen Versuchen stets nur mit dem atmosphärischen Luftdruck von 1 ^{kg} auf den Quadratzentimeter gearbeitet hatte, die meisten Wasserleitungen doch einen zum Teil erheblich höheren Druck aufzuweisen haben. Die Zahl der Keime, die schon bei einer Atmosphäre so tief in die Spalten und Hohlräume der Kerzen eingepreßt wurden, daß sie durch die rückläufige Spülung nicht mehr entfernt werden konnten, muß bei Anwendung eines höheren Druckes naturgemäß selbst bei einer sonst tadellos arbeitenden Kerze eine wesentlich größere sein!

Diese Vermutung wurde bestätigt durch mehrere Versuche, die ich mit den vorzüglich arbeitenden Kerzen II und III anstellte. Es wurde mit der Luftpumpe ein Windkessel auf 1·8 Atmosphären aufgepumpt und dieser Druck auf ein Metallgefäß übertragen, in dem sich eine Bakterienaufschwemmung befand. Durch ein Rohr stand dieses Metallgefäß mit dem oben beschriebenen Apparat in Verbindung. Die auf 1 Liter bemessene Flüssigkeitsmenge wurde in 4 bis 5 Minuten durch die Kerze gepreßt. Die Handhabung der Apparate war eine sehr einfache und sichere. Das Ergebnis der so angestellten drei Versuche: Trotz Verwendung der gut arbeitenden Kerzen 13 Prozent der Einsaat. Es war also der Beweis erbracht, daß ein höherer Druck die Keime so tief in die Poren der Kerzen hineinpreßt, daß eine Entfernung derselben durch rückläufige Spülung nur in unzulänglicher Weise möglich ist.

Ich durfte von vornherein hoffen, daß gerade unter diesen Umständen ein Zusatz von Kieselgur recht zweckmäßig sein würde: Bei fünf Versuchen mit den gleichen Kerzen (II und III) bei Zugabe von 0·3 ^{grm} Kieselgur konnte ich im Durchschnitt 84 Prozent der Aussaat wiederfinden!



Daß ein noch höherer Druck bei Verwendung von Kieselgur die Resultate im ungünstigen Sinne beeinflussen wird, halte ich auf Grund der mechanischen Vorgänge bei diesem Verfahren für unwahrscheinlich.

Praktisch wird man die Untersuchung so gestalten, daß man den Metallzylinder, in dem die Kerze sich befindet, mit einer Aufschwemmung von Kieselgur füllt und an dem Wasserleitungshahn befestigt. Das nachströmende Wasser wird zunächst die Kieselgur auf der Kerze niederschlagen. Die gröberen Poren werden verstopft und die erst später zur Kerze gelangenden Bakterien des zu untersuchenden Wassers finden in dem nunmehr bereits vorhandenen schlammigen Belag einen Schutzmantel, der ein tieferes Eindringen in die Kerze verhindert und somit ihre sofortige und nahezu vollständige Entfernung durch rückläufige Spülung gewährleistet. Es ist dabei die Vorsicht anzuwenden, daß man, nachdem die gewünschte Menge filtriert ist, den (noch mit Wasser gefüllten) Metallzylinder möglichst vorsichtig abnimmt, das (obere) Schlauchende mit einem sterilen Kork verschließt und nun erst den Apparat zwecks Öffnens und Herausnehmens der Kerze recht langsam herumdreht. Andernfalls ist es zu befürchten, daß ein Teil der Kieselgurhaube vorzeitig abgespült wird und dadurch ein Teil der Bakterien dem Nachweis verloren geht. Ein unter den Kerzenausflußzapfen gestellter Maßzylinder gibt die Menge des filtrierten Wassers zwecks quantitativer Untersuchung auf seinen Keimgehalt an.

Ich möchte die ausgesprochenen Vorteile, die der Zusatz von Kieselgur zu der zu filtrierenden Bakterienaufschwemmung bietet, kurz zusammenfassen:

1. Durch Zugabe von etwa 0·1 ^{grm} geschlämmter und subtil verteilter steriler Kieselgur wird die Prozentzahl der in der Rückspülflüssigkeit nachweisbaren Keime von 42 auf 91 erhöht.

2. Eine Auswahl der Kerzen und eine ständige Kontrolle ihrer Leistung erweist sich als überflüssig, da auch schlecht arbeitende Kerzen mit Zusatz von Kieselgur hervorragend gute Resultate liefern.

3. Die Filtration unter höherem Druck liefert ohne Kieselgur selbst bei tadellosen Kerzen schlechte Ergebnisse, mit Kieselgur aber vorzügliche. Diese Tatsache sichert der Methode ihre Verwendbarkeit zur Bestimmung des Colititers bei Nutzwasseranlagen, die einer Verunreinigung zugänglich sind und daher einer ständigen



Kontrolle unterworfen sein müssen. Mit einem sehr einfachen Apparat, der direkt an die Leitung angeschlossen wird, kann ein sicherer qualitativer und quantitativer Nachweis geführt werden.

4. Der erste Stoß mit der Druckpumpe entfernt bei der rückläufigen Spülung unter Ablösung der Kieselgurhaut fast sämtliche Keime.

5. Der feine Kieselgurbelag von 0·1 bis 0·3 grm auf den Drigalskiplatten beeinträchtigt ihre Übersichtlichkeit in keiner Weise, er befördert aber ihr Abtrocknen.

6. Durch die Verwendung von Kieselgur wird die Filtrationsgeschwindigkeit nicht merklich beeinträchtigt. Die für Untersuchung eines Liters Wasser (einschließlich der Verarbeitung auf Nährboden) notwendige Zeit beträgt bei Verwendung der Saugstrahlpumpe für eine normal arbeitende Kerze 10 bis 20 Minuten, bei Verwendung eines Druckes von 1·8 Atm. etwa 7 Minuten.

Am Schluß der Arbeit gestatte ich mir Hrn. Geheimen Rat Prof. Dr. Hofmann für entgegengebrachtes Interesse meinen ergebensten Dank auszusprechen.



[Aus dem hygienischen Institut in Heidelberg.]
(Direktor: Prof. Dr. H. Kossel.)

Über die Desinfektion von Tierhaaren zur Verhütung von gewerblichem Milzbrand.[1]

Von

Dr. **K. Laubenheimer.**
Privatdozenten und I. Assistenten.

Unter den übertragbaren Krankheiten, welche bestimmte Gewerbe besonders gefährden, nimmt an Bedeutung der Milzbrand die erste Stelle ein. Da der Milzbrand beim Menschen fast ausschließlich durch Übertragung der Krankheitskeime von Tieren oder tierischem Material zustande kommt, so sind solche Personen, die mit der Pflege von Tieren oder mit der Verarbeitung tierischer Produkte beschäftigt sind, in erster Linie einer Infektion ausgesetzt. Die größte Zahl der Erkrankungen findet sich bei Schlächtern, an zweiter Stelle folgen Personen, die in Fabriken beschäftigt sind, in welchen von Tieren stammendes Material verarbeitet wird, so vor allen in Gerbereien, Roßhaarspinnereien, Bürsten- und Pinselfabriken. Auch bei Woll- und Lumpensortierern, bei Pelz- und Handschuharbeitern, Sattlern und Schuhmachern kommt eine Infektion mit Milzbrand hier und da durch infiziertes Material zustande.

Im Gegensatz zum Milzbrand beim Tier, wobei stomachale Infektion die Regel bildet, entwickelt sich die Krankheit beim Menschen in der übergroßen Mehrzahl der Fälle als Impfmilzbrand in Form der Pustula maligna, verursacht durch das Eindringen der Krankheitskeime in kleine Hautverletzungen, Kratzwunden u. dgl.

[1] Nach einem Vortrag, gehalten auf der 83. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Karlsruhe. 1911.



Weniger häufig findet sich beim Menschen Lungenmilzbrand, hervorgerufen durch Aufnahme der Keime mit der Atemluft. Diese zuerst in England in größerem Umfange beobachtete und unter dem Namen der „Woolsorters disease" bekannt gewordene Form des Milzbrandes findet sich hauptsächlich bei Lumpensortierern und Wollarbeitern.

Noch seltener erfolgt eine direkte Infektion des Darmes beim Menschen, die unter Umständen dann zustande kommt, wenn Milzbrandsporen in die Nahrung durch infizierte Hände oder auf andere Weise hineingelangen.

Wenn nun auch in Deutschland dank der guten veterinärpolizeilichen Gesetzgebung der Milzbrand unter den Tieren bei weitem nicht so verbreitet ist, wie in anderen Staaten, und demgemäß auch die Infektionen beim Menschen nicht so häufig sind, wie dort, so ist dennoch die Zahl der alljährlich im Deutschen Reiche an Milzbrand Erkrankten und Gestorbenen eine recht beträchtliche.

So erkrankten z. B. in Preußen in den Jahren 1905 bis 1910 einschließlich 868 Personen an Milzbrand, von denen 117 = 13·5 Prozent der Krankheit erlagen.

Solche Zahlen zeigen, daß die Gewerbehygiene allen Grund hat, nach Mitteln und Wegen zu suchen, um die Gefahr der Infektion in den genannten Betrieben zu verringern. Auch die gesetzgebenden Körperschaften haben sich dieser Ansicht nicht verschlossen und eine Reihe Bestimmungen in diesem Sinne erlassen.

So dürfen nach dem Reichsgesetz, betreffend Abwehr und Unterdrückung von Viehseuchen, Kadaver der gefallenen oder getöteten milzbrandkranken oder der Seuche verdächtigen Tiere nicht abgehäutet werden. Nach dem Reichsgesetz, betreffend die Bekämpfung übertragbarer Krankheiten vom 28. September 1909, ist ferner der Milzbrand beim Menschen anzeigepflichtig. Schließlich sind für die einzelnen Betriebe, die sich mit der Verarbeitung von Tieren stammenden Materials befassen, besondere gesetzliche Bestimmungen erlassen, so die Bekanntmachung des Reichskanzlers, betreffend die Einrichtung und den Betrieb der Roßhaarspinnereien, Haar- und Borstenzurichtereien, sowie der Bürsten- und Pinselmachereien vom 22. Oktober 1902, wonach aus dem Auslande stammende Pferde- oder Rinderhaare, Schweinsborsten und Schweinswolle, sowie Ziegenhaare desinfektionspflichtig sind. In dem ursprünglichen Erlaß von 1899 waren Ziegenhaare nicht unter dem desinfektionspflichtigen Material aufgenommen. Erst auf Grund eines Milzbrandfalles beim Menschen durch Ziegenhaare und des gelungenen Nachweises der Infektionserreger an diesem Material durch Heim (1), müssen auch ausländische Ziegenhaare einer Desinfektion vor ihrer Verarbeitung unterzogen werden.



Wie wichtig und nötig diese Bestimmung ist, werde ich noch auszuführen haben.

Die Gelegenheit zur Infektion in Roßhaarspinnereien ist während der Verarbeitung der Haare in reichem Maße gegeben. Die Haare werden zunächst nach der Farbe mit der Hand sortiert, was natürlich nicht ohne große Staubentwicklung vor sich geht. Dann werden die Haare „zerrissen“, wodurch die Haarbündel in die einzelnen Haare zerlegt werden. Hierzu dienen Maschinen, der sogenannte „Reißwolf“, eine sich drehende, mit Stacheln besetzte Walze. Zuletzt gelangen die Haare in den „Mischwolf“. In beiden Maschinen ist die Staubentwicklung eine ganz gewaltige, und trotz Schutzmantel und Absaugevorrichtung ist es nicht ganz zu vermeiden, daß Staub in den Arbeitsraum dringt.

Auch in Haar- und Borstenzurichtereien, sowie in Bürsten- und Pinselmachereien sind die Arbeiter Milzbrandinfektionen ausgesetzt, da auch in diesen Betrieben Haare milzbrandempfänglicher Tiere, wie von Pferden und Schweinen, verarbeitet werden. So sind denn auch Milzbrandfälle in den genannten Fabriken wiederholt beobachtet worden und das Rohmaterial, sobald es aus dem Ausland bezogen wird, ist desinfektionspflichtig. Nicht dagegen ist bis jetzt die Desinfektion von Wolle vorgeschrieben, trotzdem das Verarbeiten von Wolle ebenfalls, wie erwähnt, mit Milzbrandgefahr verknüpft ist. In den letzten Jahren sind mehrere Infektionen mit zum Teil tödlichem Ausgang in einer Wollkämmerei vorgekommen, wie ich einer Arbeit von Weller (2) in der „Vierteljahrsschrift für gerichtliche Medizin“ entnehme.

Während man nun bisher kein wirksames Verfahren kennt, um Tierhäute sicher zu desinfizieren, ohne das Material für die Verwendung als Leder oder Kürschnerware unbrauchbar zu machen, hat man, wenn es sich nur um die Desinfektion von Haaren handelt, mehrere Methoden, von denen drei in dem schon erwähnten Gesetz vorgesehen sind:

1. Desinfektion des Rohmaterials durch 30 Minuten dauernde Einwirkung strömenden Wasserdampfes bei 0·15 Atmosphären Überdruck.

2. 15 Minuten langes Kochen in 2 prozent. Kaliumpermanganatlösung, Bleichen in 3 prozent. schwefliger Säure und Trocknen an der Sonne.

3. 2 stündiges Kochen.

Trotzdem jedes der drei Verfahren geeignet ist, Milzbrandkeime abzutöten, hat die Zahl der Erkrankungen an Milzbrand in den Betrieben, welche Tierhaare verarbeiten, eher zu- als abgenommen. Aus diesem Grunde sah sich das badische Ministerium des Innern veranlaßt, eine behördliche Überwachung der gesetzlichen Desinfektionsmaßnahmen in den betreffenden Fabriken anzuordnen, wonach die zuständigen Bezirks-



ärzte angewiesen sind, einmal jährlich in den Fabriken ihres Bezirks frisch desinfizierte Haarproben unter aseptischen Kautelen zu entnehmen und den Untersuchungsämtern für Infektionskrankheiten in Freiburg oder Heidelberg zur bakteriologischen Untersuchung einzusenden. Diese Bestimmung ist seit dem 28. Oktober 1909 in Kraft.

Über die Ergebnisse dieser Untersuchungen und über die Erfahrungen, die dabei in dem Untersuchungsamte des Hygienischen Institutes in Heidelberg gesammelt werden konnten, soll in folgendem kurz berichtet werden.

Die bakteriologische Prüfung der eingesandten Haarproben erwies zunächst, daß keines der vorhin erwähnten drei Desinfektionsverfahren imstande ist, alle den Haaren anhaftenden Keime zu vernichten. Die besten Ergebnisse in dieser Hinsicht lieferte das chemische Bleichverfahren, d. h. das Kochen mit 2 prozent. Kaliumpermanganat, Bleichen in 3 prozent. schwefliger Säure und Trocknen in der Sonne, wobei durch das Kochen in der Kaliumpermanganatlösung auch eine weitgehende mechanische Entfernung anhaftender Keime von den Haaren anzunehmen ist.

Weniger gute Resultate erzielte die Desinfektion mit gespanntem Dampf, wirkte aber immer noch energischer keimtötend, wie das 2stündige Kochen.

Was die Art der Keime betrifft, die diesen energischen Desinfektionsverfahren standhalten können, so handelt es sich natürlich nur um solche Arten, die sehr widerstandsfähige Dauerformen bilden, wie die Heu-, Kartoffel- und Erdbazillen, die sich stets in großen Mengen an den Haaren nachweisen lassen.

Mitunter fanden sich auch vegetative Keime an desinfizierten Haaren, so Bact. coli und Staphylokokken, ein Befund, auf dessen Bewertung ich noch zu sprechen kommen werde.

Dreimal wurde die Untersuchung von Haarproben verlangt im Anschluß an Milzbrandinfektionen, die sich in den betreffenden Fabriken ereignet hatten. In allen Fällen gelang es, die Ursache der Erkrankungen in Form von Milzbrandsporen an dem verdächtigen Material nachzuweisen.

Die Zahl der bisher veröffentlichten Fälle, in denen die vermuteten Krankheitserreger an dem verdächtigen Material durch bakteriologische Methoden nachgewiesen werden konnten, ist gering. In der deutschen Literatur finden sich außer dem erwähnten Falle von Heim bis zu diesem Jahre nur fünf derartige Angaben (3). Einige weitere positive Befunde sind in England erhoben und in einer sehr ausführlichen Abhandlung über „British Industrial Anthrax“ von Page (4) zusammengestellt. Erst auf der diesjährigen fünften Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Dresden berichtete Reichel (5) über zehn voneinander unabhängige



Einzelfälle von Milzbrandinfektionen in Gewerbebetrieben, in denen neunmal die Krankheitserreger auf dem verarbeiteten tierischen Material nachzuweisen waren. In sieben Fällen handelte es sich um Übertragung der Keime durch Tierhaare, wobei sechsmal Milzbrandsporen in der Außenwelt aufgefunden werden konnten, und zwar erwiesen sich durchweg Roßhaare als Träger der Infektion. Aus diesen Befunden schließt Reichel entweder auf ein weitverbreitetes Vorkommen von Milzbrandsporen auf tierischen Rohstoffen, oder auf eine besonders leichte Feststellbarkeit der Infektionsquelle. Aus den Mitteilungen des genannten Autors ist noch hervorzuheben, daß der Nachweis der Milzbrandkeime nur an solchen Proben gelang, die nachweislich oder wahrscheinlich nicht vorschriftsmäßig desinfiziert waren.

In unserem ersten positiven Fall handelte es sich um eine Roßhaarprobe, die nach der vorschriftsmäßigen Desinfektion von dem Bezirksarzt entnommen und dem Untersuchungsamt eingeschickt war, nachdem kurz zuvor sich ein Arbeiter in der betreffenden Fabrik eine tödlich verlaufende Milzbrandinfektion zugezogen hatte. Es gelang, an den zugesandten Haaren Milzbrandkeime nachzuweisen, die also durch die Desinfektion im Dampfapparat nicht abgetötet worden waren.

Der Grund für die Unwirksamkeit der Desinfektion war in einer fehlerhaften Konstruktion des Desinfektionsapparates oder in einem Fehler in der Bedienung desselben zu suchen.

Mit Genehmigung des Ministeriums des Innern wurde deshalb die Haardesinfektion in der betreffenden Fabrik einer Revision unterzogen. Es fand sich dabei nichts, das zur Beanstandung hätte führen können. Zur Desinfektion kam ein Ballen russischer Pferdeschweifhaare nach vorheriger Lockerung der zusammenhaltenden Schnüre. In verschiedenen Tiefen des Ballens wurden Maximalthermometer, ein Klingelthermometer sowie Testobjekte, bestehend aus Milzbrandsporenfäden, untergebracht. Vor Beginn der Desinfektion und nach Beendigung derselben wurden Haarproben aus verschiedenen Teilen des Ballens mit sterilen Instrumenten entnommen und in sterile Gläser gebracht, die ausgelegten Testobjekte nach der Desinfektion gesammelt. Die im Hygienischen Institut vorgenommene Untersuchung der entnommenen Proben ergab, daß den desinfizierten Haaren nur sporenbildende Keime aus der Gruppe der Heu- und Erdbazillen anhafteten. Milzbrandkeime ließen sich nicht nachweisen. Die Milzbrandsporenfäden waren steril. Aus diesem Befund mußte geschlossen werden, daß die ungenügende Desinfektion, die zu der erwähnten Milzbrandinfektion geführt hatte, nicht durch einen Mangel des Desinfektionsapparates, sondern durch einen Fehler in der Bedienung oder



in einer nicht genügenden Auflockerung des betreffenden Haarballens bedingt war.

Um Anhaltspunkte über die Widerstandsfähigkeit der den Haaren anhaftenden Sporen zu gewinnen, wurden die in der Fabrik desinfizierten Haare im Koch schen Dampftopf nochmals $^1/_2$ und 1 Stunde strömendem Dampf von 100° und eine weitere Probe dieselbe Zeit Wasserdampf von 105° im Autoklaven ausgesetzt. Auch jetzt noch ließen sich an den so behandelten Haaren entwicklungsfähige Sporen nachweisen.

Diese Versuche zeigen, daß eine vollständige Sterilisation der Tierhaare praktisch nicht zu erreichen ist. Wenn es schon bei den kleinen, zu den erwähnten Versuchen benutzten Proben, wobei der Dampf ungehinderten Zutritt zu den Haaren hatte, nicht möglich war, die resistenten Dauerformen abzutöten, so ist das noch viel weniger zu erwarten bei den voluminösen Haarballen, wie sie in der Fabrik zur Desinfektion kommen. Auf Grund dieser Erfahrungen schließen wir bei den eingesandten Haarproben dann auf eine ausreichende Desinfektion, wenn keine Milzbrandkeime nachgewiesen werden können, und wenn ferner keine Kolonien vegetativer Bakterienarten in der Kultur zur Entwicklung kommen. Das Auskeimen sporentragender Arten aus der Gruppe der Heu-, Erd- und Kartoffelbazillen berechtigt nicht zu dem Schlusse, daß die Desinfektion eine ungenügende war.

Der Nachweis von Milzbrandkeimen an Tierhaaren war bisher stets nur an Pferdehaaren erhoben worden, ausgenommen der eine schon erwähnte Fall von Heim, der dazu Veranlassung gab, daß auch ausländische Ziegenhaare unter das desinfektionspflichtige Material aufgenommen wurden. Wie richtig und nötig diese Bestimmung ist, kann ich durch eigene Erfahrungen bestätigen, wonach vier Milzbranderkrankungen mit einem Todesfall auf eine Infektion durch Ziegenhaare zurückzuführen sind.

Bei den gesteigerten Preisen werden die geringwertigen Roßhaarsorten in ausgedehntem Maße mit den billigeren Ziegenhaaren vermischt, und es ist nicht unwahrscheinlich, daß mit auf diesen Umstand die in letzter Zeit auffallende Vermehrung von Milzbranderkrankungen in Roßhaarspinnereien zurückzuführen ist. Die zur Verarbeitung kommenden Ziegenhaare werden fast stets aus dem Ausland bezogen, aus China, Indien, Afrika, Südamerika, Rußland und Spanien. Seltener werden sogenannte Gerbereihaare verwendet, die in deutschen Gerbereien bei dem Enthaarungsprozeß gewonnen werden.

Daß Ziegenhaare in bezug auf Milzbrandgefahr ganz besonders gefährliche Objekte darstellen, geht aus unseren Untersuchungen hervor, wonach dieselben unter Umständen hochgradig mit Milzbrandsporen infiziert sein können und außerdem einer sicheren Sterilisation noch größere

Schwierigkeiten entgegensetzen, wie Pferdehaare. Ich werde auf diesen Punkt noch zurückkommen.

Die ersten von uns beobachteten Fälle von Milzbrandinfektion durch Ziegenhaare ereigneten sich in einer Roßhaarspinnerei in Mannheim, unter deren Arbeitern fast gleichzeitig drei Fälle von Hautmilzbrand auftraten, von denen der eine rasch tödlich verlief. Die Erkrankten waren alle in der Hechelei beschäftigt gewesen und nur mit Material in Berührung gekommen, das den Desinfektionsapparat durchlaufen hatte.

Als Träger der Infektion kamen vornehmlich indische Ziegenhaare in Betracht, mit deren Verarbeitung die Erkrankten zu tun hatten.

Von dem verdächtigen Material wurden verschiedene Proben vor der Desinfektion entnommen und schließlich ein weiterer Ballen Ziegenhaare der Desinfektion unterworfen, nachdem Maximal- und Klingelthermometer sowie Milzbrandsporenfäden als Testobjekte an verschiedenen Stellen des Apparates und in verschiedenen Schichten des Ballens untergebracht waren.

Vor der Desinfektion wurden die Eisenbänder, die den etwa 3 Zentner schweren, hydraulisch gepreßten Ballen zusammenhielten, entfernt, wobei sich zeigte, daß die Haarbündel nur sehr geringe Neigung hatten, auseinanderzugehen, während Roßhaarballen nach Entfernung der Umschnürung infolge der großen Elastizität der Roßhaare leicht in einzelne Bündel zerfallen. Die Ziegenhaarballen fühlten sich fast steinhart an, und um die Testobjekte und Thermometer in tieferen Schichten unterzubringen, mußte mit Hammer und Stemmeisen ein Loch in die verfilzten Haarmassen geschlagen werden.

Unter solchen Umständen war es nicht zu verwundern, daß nach $^1/_2$ stündiger Einwirkung des Dampfes mit 0·5 Atmosphären Überdruck 20^{cm} unter der Oberfläche des Ballens erst eine Temperatur von 46^0 erreicht war, eine Desinfektion mithin nicht stattgefunden haben konnte.

Die bakteriologische Untersuchung der entnommenen Proben hatte nachstehendes Resultat. An den Haaren eines nicht desinfizierten Ballens von der Oberfläche und aus den tiefen Schichten fanden sich neben zahlreichen vegetativen und sporenbildenden Keimen echte Milzbrandbazillen.

Haare von der Oberfläche eines weiteren Ballens nach der Desinfektion wiesen nur wenige Keime aus der Gruppe der Heu- und Erdbazillen auf. Milzbrandsporen wurden in dieser Probe nicht gefunden. Dagegen konnten Milzbrandkeime wieder nachgewiesen werden an Proben, die aus Schichten ungefähr 20^{cm} unter der Oberfläche stammten.

Kurz zusammengefaßt hatte also die beschriebene Untersuchung, die sich an drei Fälle von Milzbrand bei Arbeitern anschloß, die mit desinfizierten Ziegenhaaren zu tun hatten, ergeben, daß das verarbeitete Material hochgradig mit Milzbrandsporen infiziert war. Ferner, daß in-



folge der geringen Elastizität der Ziegenhaare eine wirksame Desinfektion auf große Schwierigkeiten stößt und sich nur auf die oberflächlichen Schichten der Haarballen beschränkt.

$2^1/_2$ Monate später ereignete sich in Lahr in einer Roßhaarspinnerei ein Fall von Hautmilzbrand, als dessen Infektionsquelle ebenfalls Ziegenhaare in Betracht kamen. Die daraufhin vorgenommene Untersuchung des der Infektion verdächtigen Materials ergab wieder Milzbrandbazillen an den Ziegenhaaren, die aber diesmal nur an nicht desinfizierten Proben vorgefunden wurden. An den desinfizierten Haaren konnten nur Heu- und Erdbazillen nachgewiesen werden. Vielleicht waren die eingesandten Haarproben nur oberflächlichen Schichten entnommen, bis zu welchen der Dampf eine genügende Wirkung entfalten konnte. Die mit Milzbrandsporen infizierten Ziegenhaarballen stammten von derselben Schiffsladung, wie die Ballen, welche die Infektionen in Mannheim verursacht hatten. Es muß aus dem Umstand, daß bei drei Stichproben sich regelmäßig Milzbrandsporen nachweisen ließen, geschlossen werden, daß mit großer Wahrscheinlichkeit die ganze Schiffsladung infiziert war.

Ich gehe nunmehr zu den bakteriologischen Methoden über, welche den Nachweis von Milzbrandkeimen an Tierhaaren gestatten. Ich erwähnte schon die auffällige Tatsache, daß ein positiver Befund bisher in so wenigen Fällen erhoben worden ist, während nach den Untersuchungen von Reichel und nach unseren Erfahrungen der Nachweis durch das Kulturverfahren keine besonderen Schwierigkeiten bietet, falls überhaupt Milzbrandkeime an dem Material vermutet werden dürfen.

Eine Anreicherungsmethode anzuwenden, so durch Übergießen der Haare mit Bouillon und Bebrütung bei 37°, empfiehlt sich nicht, da die Begleitbakterien etwa vorhandene Milzbrandkeime vollständig überwuchern, auch wenn man durch Erhitzen auf 60 bis 80° für die Entfernung der vegetativen Formen Sorge getragen hat. So erhielt Heim in dem erwähnten Falle eines gelungenen Nachweises von Milzbrandsporen an Ziegenhaaren mit einer solchen Anreicherung nur negative Resultate, während der Nachweis der Infektionserreger gelang, als er, einem Vorschlage Kossels folgend, die Haare mit Bouillon abschüttelte, die vegetativen Formen durch Erhitzen auf 80° abtötete, sofort zentrifugierte und den Bodensatz auf Agarplatten ausstrich. Nach dem gleichen Prinzip arbeitend, erhielt Reichel seine positiven Befunde. Reichel übergießt die Proben mit sterilem Wasser, erhitzt $^3/_4$ Stunden auf 65°, zentrifugiert und benutzt den Bodensatz zur Aussaat auf Agar in großen Schalen.

Noch einfacher gestaltet sich die Methodik, die uns die Infektionskeime an Tierhaaren mit Regelmäßigkeit nachzuweisen gestattete. Es

wurde dabei sowohl auf ein Abschütteln der Keime von den Haaren durch Bouillon oder Wasser, sowie auch auf das Erhitzen zwecks Abtötung der vegetativen Bakterien verzichtet, was um so eher geschehen konnte, als wir es meistens mit Proben zu tun hatten, die in der Fabrik schon desinfiziert waren und deshalb keine oder nur wenige vegetative Formen aufwiesen. Ist dagegen das Material, wie immer in undesinfiziertem Zustande, sehr mit solchen Bakterien verunreinigt, so wird durch das Erhitzen die Untersuchung sicher erleichtert. Das von uns geübte Verfahren bestand demnach darin, daß von den zu untersuchenden Haarproben etwa 1 ^{cm} lange Stücke mit sterilen Instrumenten abgeschnitten, in verschiedenen Mengen in Petrischalen gegeben und mit etwa 60^{0} heißem Agar übergossen wurden. Durch Hin- und Herneigen der Schalen werden die Haare in dem Nährmedium gut verteilt. Nach 16 bis 20 Stunden bei 37^{0} gelangen die gewachsenen Kolonien zur Untersuchung. Die Unterscheidung milzbrandähnlicher von echten Milzbrandkolonien nur nach der Wachstumsform kann auch dem geübten Untersucher Schwierigkeiten bereiten. Von den verdächtigen Kolonien werden deshalb mit verdünntem Karbolfuchsin und nach Gram gefärbte Ausstrichpräparate sowie hängende Tropfen angefertigt. Namentlich die Untersuchung im hängenden Tropfen gibt sehr wertvolle Anhaltspunkte, da die Mehrzahl der milzbrandähnlich wachsenden Bakterienarten im Gegensatz zu den echten Milzbrandbazillen Eigenbewegung besitzt. Zeigt sich eine Kolonie, die der Form nach auf Milzbrand verdächtig ist, aus grampositiven unbeweglichen Stäbchen zusammengesetzt, so wird davon auf Schrägagar und Bouillon abgeimpft sowie gleichzeitig eine Maus oder ein Meerschweinchen damit subkutan geimpft. In der Mehrzahl der Fälle impften wir nur Mäuse mit verdächtigen Kolonien und erhielten dabei stets rasch tödlich verlaufende Infektionen, ein Umstand, der deshalb hervorgehoben sei, weil andere Autoren (Petruschky)[1] bei der Verwendung von Meerschweinchen zuweilen positive, mit Mäusen dagegen negative Resultate erhalten haben. Der Ausfall des Tierversuchs ist entscheidend für die Diagnose und gibt, wenn Milzbrand vorliegt, meist schon innerhalb 24 bis 48 Stunden das endgültige Resultat.

Wenn nun auch der Tierversuch zur Identifizierung verdächtiger Kolonien unentbehrlich ist, so versagt er sehr häufig bei direktem Verimpfen milzbrandverdächtigen Materials, selbst wenn dasselbe im Kulturverfahren sich als infiziert erweist, das also in diesem Falle das feinere Reagens darstellt.

[1] Diskussionsbemerkung auf der 83. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte. Karlsruhe 1911.



Um das Gesagte noch einmal kurz zusammenzufassen, so sehen wir, daß in den Gewerben, die sich mit der Verarbeitung von Tieren stammenden Materials beschäftigen, zahlreiche Erkrankungen und Todesfälle an Milzbrand alljährlich beobachtet werden, die auf Infektionen durch das verarbeitete Material zurückzuführen sind. In hervorragendem Maße sind die Arbeiter in Betrieben gefährdet, in welchen Tierhaare verarbeitet werden, also in Roßhaarspinnereien, Borsten- und Pinselfabriken. Als besonders infektionsgefährlich sind die aus dem Auslande bezogenen Tierhaare anzusehen, die aus diesem Grunde vor der Verarbeitung einer Desinfektion zu unterwerfen sind. Trotz dieser gesetzlich vorgeschriebenen Vorsichtsmaßregel kommen Milzbrandfälle unter den Arbeitern der genannten Betriebe nicht selten vor. So ereigneten sich in dem Teil Badens, für den das Untersuchungsamt des Hygienischen Institutes in Heidelberg zuständig ist, in den letzten 2 Jahren fünf Fälle von Milzbrandinfektionen in Roßhaarspinnereien, von denen zwei tödlich verliefen. Die Erkrankten hatten ausschließlich mit Material zu tun gehabt, das der vorschriftsmäßigen Dampfdesinfektion unterworfen war.

In dem ersten Falle konnten Roßhaare, die in der Fabrik vorschriftsmäßig desinfiziert waren, als Infektionsträger ermittelt werden, indem lebende Milzbrandkeime an den Haaren nachgewiesen wurden.

In den vier anderen Fällen kamen als Infektionsquelle in erster Linie indische Ziegenhaare in Betracht. Die bakteriologische Untersuchung dieser Haare zeigte dieselben als mit Milzbrandsporen hochgradig infiziert.

Welche Schlußfolgerungen und Lehren lassen sich aus diesen Untersuchungsergebnissen ziehen?

Zunächst zeigte es sich, daß die vorgeschriebene Dampfdesinfektion der ausländischen Roßhaare mitunter nicht imstande ist, anhaftende Milzbrandsporen abzutöten. Ein Fehler in der Konstruktion des Desinfektionsapparates oder eine mangelhafte Bedienung braucht dabei nicht vorzuliegen. Ein Mißerfolg kann vielmehr auch in der Beschaffenheit des Desinfektionsgutes (nicht genügende Lockerung der Ballen) seine Ursache haben.

Ferner haben unsere Untersuchungen dargetan, daß auch Ziegenhaare, die als Ersatz für Roßhaare in immer ausgedehnterem Maße verarbeitet werden, unter Umständen hochgradig mit Milzbrandkeimen infiziert sein können. Die Desinfektion der Ziegenhaarballen stößt aber auf noch größere Schwierigkeiten, wie die der Roßhaarballen, da die Ziegenhaare weit weniger elastisch als Roßhaare sind und in gepreßtem Zustande, in dem sie zum Versand kommen, dem Eindringen des Dampfes weit größere Schwierigkeiten entgegenstellen.



Nach diesen Erfahrungen ist es notwendig, die Haarballen vor dem Einbringen in den Desinfektionsapparat nicht nur von den zusammenhaltenden Umschnürungen zu befreien und hierdurch eine gewisse Auflockerung herbeizuführen, sondern die Ballen müssen vollständig in kleine Bündel zerlegt, auf Horden dem Dampf ausgesetzt werden, um eine schnelle und sichere Desinfektionswirkung zu gewährleisten.

Die mit diesem Auseinandernehmen des undesinfizierten Materials betrauten Arbeiter sind in besonders hohem Maße einer Infektionsgefahr ausgesetzt, zumal die Lockerung der trockenen Haare mit einer heftigen Staubentwicklung verbunden ist. Es müssen also besondere Vorsichtsmaßregeln getroffen werden, um Infektionen bei dieser Arbeit zu vermeiden. Zu diesem Zwecke müssen die mit der Arbeit des Auseinandernehmens und der Desinfektion beschäftigten Arbeiter vollständige Desinfektorenanzüge tragen, bestehend aus Mütze, Rock und Hose aus Waschstoff, Schuhen, Mund- und Nasenschutz, etwa in Form der von Kobrak (6) angegebenen Maske. Nach jedesmaligem Gebrauch sind die Anzüge zu desinfizieren. Nach der Beschickung des Desinfektionsapparates haben sich die betreffenden Arbeiter Gesicht, Hände und Unterarme gründlich mit Wasser und Seife zu reinigen, die Hände zweckmäßig mit einer desinfizierenden Flüssigkeit, z. B. einer 5 prozentigen Kresolseifenlösung, abzuwaschen. Der Hauptnachdruck wird dabei auf eine gründliche mechanische Reinigung mit Wasser und Seife zu legen sein.[1]

Es könnte gegen diese vorgeschlagenen Maßnahmen der Einwand erhoben werden, daß nun der Arbeiter, der das Auseinandernehmen der Ballen vor der Desinfektion zu besorgen hat, in ganz besonders hohem Grade der Desinfektion ausgesetzt ist. Dem ist entgegenzuhalten, daß dieser Arbeiter durch die vorgeschlagenen Schutzmaßregeln in sehr weitgehendem Maße gegen eine Infektion geschützt werden kann, während derselbe bei dem bisherigen Desinfektionsverfahren ebenfalls unter Umständen mit infiziertem Material aber ohne Schutz gegen eine Infektion zu tun hatte. Ferner ist zu bedenken, daß auf diese Weise der Kreis der gefährdeten Personen sehr verkleinert wird und sich nur auf den Desinfektor beschränkt, während bei einer unsicheren Desinfektion der Haare weit mehr Arbeiter einer Infektionsgefahr ausgesetzt sind.

Eine weitere Verbesserung der bisher geübten Schutzmaßregeln wäre darin zu sehen, daß die Bodenfläche, auf der die undesinfizierten Ballen abgeladen und gelagert werden, aus Zement besteht, um eine gründliche Reinigung zu ermöglichen. Auch der Boden rings um den Desinfektions-

[1] Eine diesen Forderungen entsprechende Anordnung ist von der Fabrikinspektion in Karlsruhe getroffen worden.



apparat sollte zementiert und letzterer selbst an jeder Schmalseite mit einer Tür versehen sein, um das auch sonst in dem Desinfektionswesen geübte Prinzip der „reinen und unreinen Seiten" durchführen zu können. Auf diese Weise könnte eine nachträgliche Verunreinigung der desinfizierten Haare mit milzbrandsporenhaltigem Staub und Erde sicher vermieden werden.

Es ist zu erhoffen, daß durch solche Maßnahmen eine sichere Desinfektion der Tierhaare zu erzielen ist, und somit auch eine erhebliche Abnahme der Milzbranderkrankungen in den Roßhaarspinnereien und ähnlichen Betrieben erreicht wird.

Literatur-Verzeichnis.

1. Heim, Eine Milzbrandinfektion durch Ziegenhaare. *Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1901. Bd. XVIII. S. 135.

2. Weller, Die gewerblichen Anlagen zur Verarbeitung von Tierhäuten und Tierhaaren vom hygienischen Standpunkte. *Vierteljahrsschrift für gerichtl. Medizin und öffentl. Sanitätswesen.* 1911. Bd. XCI. Suppl.-Heft I. S. 143.

3. Rembold, Zur Ätiologie des Milzbrandes. *Diese Zeitschrift.* 1888. Bd. IV. S. 498.

— Gruber, *Das österreichische Sanitätswesen.* 1896. Nr. 7 u. 8.

— Silberschmidt, Roßhaarspinnerei und Milzbrandinfektion. *Diese Zeitschr.* 1896. Bd. XXI. S. 455.

— Russ, Nachweis von Milzbrandbazillen am Pferdehaar. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1907. Bd. XX. S. 663.

— Athanas, *Ebenda.* 1907. Bd. XX. S. 764.

4. Page, British Industrial Anthrax. *The Journal of Hygiene.* Vol. IX. p. 357.

5. Reichel, Der Nachweis und die Verbreitung der Milzbrandsporen auf tierischen Rohstoffen. *Bericht über die 5. Tagung der Freien Vereinigung f. Mikrobiologie in Dresden.* 8. bis 10. Juni 1911.

— *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. L. Beilage zu Abt. I. Ref. S. 83.

6. Kobrak, Respiratoren zum Schutze gegen die Einatmung infektiöser Tröpfchen und Stäubchen. *Diese Zeitschrift.* 1911. Bd. LXVIII. S. 157.



[Aus der bakteriologischen Untersuchungsstation des Gouvernements Kiautschou.]

Die Fleckfiebererkrankungen des Frühjahres 1911 in Tsingtau und Untersuchungen über den Erreger des Fleckfiebers.

Von

Marine-Stabsarzt Dr. **Fuerth,**
Vorstand der bakteriologischen Untersuchungs- und Wutschutzstation und Leiter des Infektionskrankenhauses „Höhenlager".

(Hierzu Taf. V u. VI.)

Einleitung.

Epidemiologisch und klinisch Bemerkenswertes.

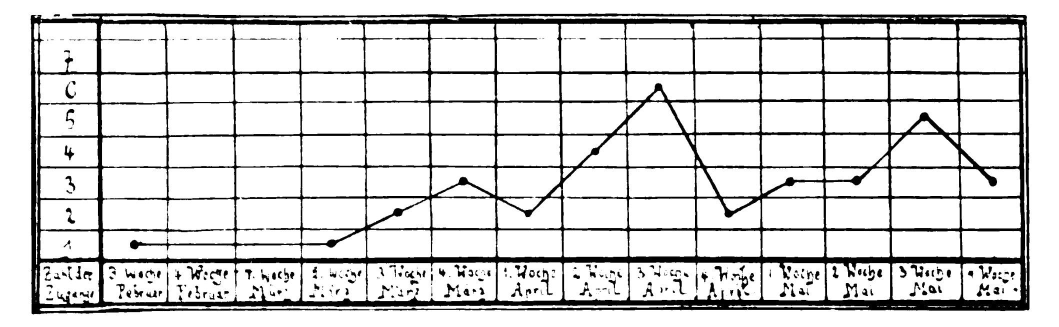
Fleckfiebererkrankungen sind seit der Besitzergreifung im deutschen Kiautschougebiet nicht häufig zur Beobachtung gekommen. Eine größere Epidemie trat nur einmal im Jahre 1899 unter den chinesischen Arbeitern auf, die in der Zeit der Gründung der Stadt Tsingtau in dem improvisierten Mattendorfe Tapautau untergebracht waren.

Diese Epidemie dauerte von Anfang Mai bis Ende September. Sie war aus dem Hinterlande, der Provinz Schantung, eingeschleppt. Insgesamt kamen 346 Fälle zur Beobachtung, von denen 64 einen tödlichen Verlauf nahmen = 18·5 Prozent. In den folgenden Jahren finden wir in den jährlichen Berichten nur ganz vereinzelte Krankheits- und wenige Todesfälle an Fleckfieber verzeichnet, niemals eine Häufung der Fälle, die den Eindruck einer Epidemie hervorrufen konnte. Dieser Friede wurde im Februar und März 1911 durch mehrere kurz hintereinander auftretende Fleckfiebererkrankungen unter der europäischen und chinesischen Bevölkerung des Stadtgebietes Tsingtau jäh gestört. Die Einleitung dieser



Häufung von Fleckfieberfällen, die sich bis in den Juli ds. Js. hinzog, bildete die Erkrankung eines Kulis des Infektionskrankenhauses „Höhenlager" im Februar 1911. Der Kuli gehörte der damals, zur Zeit der Pestabwehr, neugebildeten Transportkolonne an, deren Aufgabe es war, Kranke und Krankheitsverdächtige aus der Chinesenstadt dem „Höhenlager" zuzuführen. In den der Erkrankung vorhergehenden Wochen waren mehrfach Transporte von entkräftet aufgefundenen Chinesen, von denen einige auf dem Transporte zu dem Krankenhause starben, notwendig geworden. Trotz jedesmal vorgenommener Leichenöffnung, die damals durch die herrschende Pestgefahr notwendig wurde, hat sich die Todesursache in mehreren Fällen nicht ermitteln lassen. Heute werden wir nicht fehlgehen, wenn wir behaupten, daß unter diesen sich schon Fleckfieberkranke befanden. Die Epidemie erstreckte sich auf insgesamt 15 Fälle unter der europäischen und etwa 50 unter der chinesischen Bevölkerung des Schutzgebietes. Es mag der eine oder der andere Fall unter der Chinesenbevölkerung nicht zur Kenntnis der Behörde gelangt sein. Doch handelte es sich dann gewiß nur um leichtere Fälle. Jedenfalls konnten bei dem eingerichteten polizeilichen Meldewesen Todesfälle nicht verschwiegen werden. Zudem hat das Vertrauen der Bevölkerung zur Kunst europäischer Ärzte im Laufe der Jahre so zugenommen, daß Kranke meist freiwillig bei schweren Leiden ärztliche Hilfe nachsuchen. Alle zur Kenntnis der Behörde kommenden Fälle von Fleckfiebererkrankungen wurden zur Behandlung dem zur Aufnahme Infektionskranker bestimmten Krankenhause „Höhenlager" überwiesen. Die nachfolgende Tabelle zeigt die wöchentliche Zugangszahl.

Tabelle I.



Wenn auch bei der leichten Übertragbarkeit der Krankheit die Gefahr einer weiteren Ausbreitung der Seuche nicht gering zu schätzen war, so durfte man doch hoffen, daß die geordneten sanitären Verhältnisse im Schutzgebiet es nicht zu einem Überhandnehmen der Epidemie kommen lassen würden. In Anbetracht, daß von etwa 35 000 auf verhältnismäßig

engem Raum zusammenlebenden Chinesen, meist in Herbergen wohnender Arbeiterbevölkerung, nur etwa 40 bis 50 nachweislich erkrankten und etwa fünf der Seuche erlagen, muß die Epidemie unter den Chinesen als leicht bezeichnet werden. Auf den ersten Blick erscheint die Erkrankungszahl von 15 Europäern sehr hoch. Zu berücksichtigen ist jedoch, daß es sich bei vier von diesen um Ärzte bzw. Krankenpfleger handelt, die der Ansteckungsgefahr besonders ausgesetzt waren. In drei anderen Fällen konnte die Ansteckung mit Bestimmtheit auf einen Krankheitsfall unter der chinesischen Bedienung im Hause, bzw. in der Nachbarschaft, zurückgeführt werden. Erwähnung verdient der Umstand, daß die Ansteckung von ärztlichem und Pflegepersonal nur bei der Behandlung chinesischer Kranker erfolgte.

So erkrankten 1 Arzt, 1 Pflegeschwester, 2 Mann des europäischen Sanitätsunterpersonals und 3 chinesische Transportkulis des „Höhenlagers“. Es erscheint nicht unberechtigt, schon allein hieraus den Rückschluß zu ziehen, daß das Ungeziefer bei der Übertragung der Krankheit eine wichtige Rolle spielt und eine Infektion durch Ausscheidungen der Kranken erst in zweiter Linie in Betracht kommt. Auch die Tatsache, daß nur Männer von der Chinesenbevölkerung nachweislich erkrankten, spricht in geringem Maße dafür. Die ärmere, vorwiegend aus unverheirateten männlichen Arbeitern bestehende Bevölkerung wohnt, da meist ohne eigene Familie, bis zu 20 bis 30 Mann in Herbergen zusammen, in denen eine Übertragung von Ungeziefer an der Tagesordnung sein dürfte. Bei den Verheirateten, die meist in besseren Verhältnissen leben, ist entschieden mehr Sinn für Sauberkeit zu finden, und ihre Wohnräume sind nicht so eng belegt.

Zu ähnlichen Schlüssen kam Conseil (1) bei der Fleckfieberepidemie in Tunis im Jahre 1909. In Tunis selbst wurde eine Ansteckung in der Familie nur in zwei Fällen beobachtet, in denen es sich um Leute handelte, die in sehr unsauberen, reichlich Ungeziefer beherbergenden Wohnungen eng zusammenhausten, während auf dem Lande, wo bedeutend ungünstigere Wohnverhältnisse herrschten, sich Übertragungen in der Familie oft ereigneten.

Versuche, die im Jahre 1909 von Nicolle, Comte und Conseil (2) in Tunis, sowie von Ricketts und Wilder (3, 4, 5, 6) in Chikago angestellt wurden, ergaben die Möglichkeit der Übertragung von Typhus exanthematicus von Affe zu Affe, bzw. von Mensch zu Affe, durch Kleiderläuse. Durch den positiven Ausfall dieser Versuche werden wir in den Vermutungen betreffs der Übertragung des Typhus exanthematicus wesentlich bestärkt.



Auch Mc Campbell (14) mißt auf Grund seiner Beobachtungen in Mexiko den Insekten, besonders Läusen, für die Übertragung des Fleckfiebers eine große Bedeutung bei, trotzdem ihm experimentell die Übertragung auf den Affen durch Läuse nicht gelang.

Für die Prophylaxe des Typhus exanthematicus ist diese Wahrscheinlichkeit der Krankheitsübertragung von größter Bedeutung. Es wird zunächst in den Wohnungen und der Umgebung der Kranken der Vernichtung des Ungeziefers, besonders der Läuse eine erhöhte Aufmerksamkeit zu schenken sein. Bei der Aufnahme erkrankter Personen im Krankenhaus erscheint sofortige Desinfektion der Kleider, gründliches heißes Baden des Kranken und Bekleiden mit Anstaltskleidung vor Aufnahme in die Krankenräume zum Schutze des Ärzte- und Pflegepersonals unerläßlich. Bei den erkrankten Chinesen mußte gleichfalls eine gründliche Reinigung des Kopfes und Zopfes von Läusen statthaben, wobei Petroleum sehr gute Dienste leistete. Die Säuberung der Kranken und die Verpackung der Kleider zur Desinfektion wurde im Tsingtauer Infektionskrankenhause den beiden chinesischen Kulis übertragen, die zu Beginn der Epidemie eine Ansteckung mit Typhus exanthematicus erfahren und eine schwere Erkrankung überstanden hatten. Seitdem sahen wir nur noch einmal eine Ansteckung des Pflegepersonals, die einen europäischen Krankenwärter betraf, der bei der Aufnahme der Kranken die Aufsicht führte.

Es dürfte sich empfehlen, in Fleckfieberzeiten zu diesem Dienste möglichst Leute zu verwenden, die den Typhus exanthematicus überstanden haben, da nach den heutigen Erfahrungen Überstehen der Krankheit einen nicht geringen Schutz gegen Neuinfektion verleiht.

Fragen wir uns, wie die Krankheit in Tsingtau Eingang gefunden hat, so sehen wir, daß zu Anfang des Jahres 1911 die Umstände für eine Verbreitung von Infektionskrankheiten in der Provinz Schantung sehr günstig waren. Abgesehen von der herrschenden Pestgefahr waren in Südschantung Hungersnot und Hungertyphus in einer über die Vorjahre weit hinausgehenden Stärke aufgetreten. Viele Familien griffen deshalb zum letzten Rettungsanker, scharrten ihr Letztes an Geld und Gut zusammen, um hiermit einem Familienmitglied zu ermöglichen, einen der durch ihren guten Verdienst bekannten Hafenorte zu erreichen. Von hier aus, wo bei Europäern stets lohnende Beschäftigung zu finden war, sollte der Mann der Familie Rettung bringen. Gewiß sind auf diese Art viele entkräftete und widerstandslose Individuen auch nach Tsingtau gekommen und mit diesen wahrscheinlich der Keim der Fleckfiebererkrankung. Noch heute, beim Schreiben des Berichtes, rafft nach Mitteilung von Missionaren der Hungertyphus in Südschantung viele dahin.

Der klinische Verlauf der Fleckfiebererkrankungen ist bereits so eingehend von anderen Beobachtern bei früheren Epidemien beschrieben worden, daß es erübrigt, des Näheren darauf einzugehen. Hier seien nur einige Besonderheiten erwähnt, die uns bei der Epidemie in Tsingtau auffielen.

Bei der Chinesenbevölkerung zeigte sich eine Häufung von Abortivfällen und wenig charakteristischen Krankheitsbildern im Gegensatz zu den Fällen bei Europäern, die sich meist als schwer und charakteristisch verlaufend darstellten. Schon der vorerwähnte, erste klinisch beobachtete Krankheitsfall gestattete erst nach mehrtägiger Beobachtung mit Sicherheit die Diagnosenstellung. Anfangs waren die Symptome wenig ausgesprochen, der Krankheitsverlauf ein leichter, und die Seltenheit von Fleckfieberfällen verbot eine voreilige Entscheidung. Wie viel milder der Verlauf der Krankheit sich bei der Chinesenbevölkerung gestaltete, zeigen die Mortalitätszahlen: 11 Prozent Todesfälle bei Chinesen, 33 Prozent bei Europäern. Auch die durchschnittliche Zahl von 7·5 Fiebertagen der Chinesen steht in auffallendem Gegensatz zu den 13·5 Fiebertagen bei den Europäern. Allerdings ist dabei zu berücksichtigen, daß diese Zahl der Chinesen insofern ungenau sein kann, als der Beginn der Erkrankung nicht immer mit Sicherheit festzustellen war. Die Fälle unter der Chinesenbevölkerung müssen auch deshalb als leichter bezeichnet werden, weil eine ganze Anzahl klinisch sicher als Fleckfieber festgestellter Erkrankungen mit fehlender oder nur geringer Benommenheit, nur schwach ausgeprägtem Exanthem und geringem Krankheitsgefühl einhergingen, Krankheitszeichen, die bei den europäischen Kranken stets sehr stark ausgesprochen waren.

Eine Erklärung für diese Verschiedenheit der Krankheitserscheinungen bei Chinesen und Europäern läßt sich vielleicht durch die Annahme von früher überstandenen Fleckfiebererkrankungen oder einer erworbenen Rassenimmunität geben.

Die bei den Chinesen beobachteten Krankheitsbilder lassen sich in drei verschiedene Gruppen unterbringen: von diesen zeigt die erste Fälle, die mit einem Verlauf einhergehen, der als typisch bezeichnet werden muß, mit lytischem oder kritischem Abfall des Fiebers nach durchschnittlich 9- bis 10tägiger Erhöhung der Körperwärme, starker Konjunktivitis, Benommenheit und ausgebreitetem fleckigem Exanthem am ganzen Körper.

Im Gegensatz dazu zeigt die zweite Gruppe einen leichteren Verlauf, die vorerwähnten Krankheitszeichen weniger deutlich ausgesprochen und die Entfieberung schon am 4. bis 6. Tage. Die dritte Gruppe umfaßt nur wenige Fälle, die letal am 3. oder 4. Behandlungstage endigten. Auffallend war bei diesem, daß das Exanthem und alle anderen Krank-



heitszeichen von vornherein sehr deutlich ausgeprägt waren, während sich anfangs im Gegensatz dazu die Körperwärme nur wenig über 37° erhob. Mit plötzlichem Anstieg des Fiebers am 2. und 4. Behandlungstage steigerten sich die Krankheitserscheinungen, unter denen am 4. bis 6. Tage der Tod erfolgte.

Unter den europäischen Kranken war besonders ein Fall bemerkenswert, bei dem am 6. Krankheitstage die anfangs fleckige Röte in einen zusammenhängenden dunkel-scharlachroten Überzug auf den ganzen Körper überging, in dem einzelne blaurote Flecke mit hämorrhagischer Mitte deutlich hervortraten. Auf diesen Fall, sowie die unter 3. genannten kommen wir unten bei Besprechung der Bakterienbefunde noch besonders zurück, da sie sich für die kulturellen Untersuchungen als am aussichtsreichsten erwiesen.

Eine im Litzuner Gefängnis, getrennt von den Krankheitsfällen des Tsingtauer Stadtgebietes etwas später aufgetretene Epidemie von 16 Fällen wurde durch Untersuchungsgefangene aus einem Dorfe des Schutzgebietes in das Gefängnis eingeschleppt. Bei diesen Kranken war wiederum auffällig, daß eine Reihe von Erkrankungen nach kürzer dauernder Erhöhung der Körperwärme mit Untertemperaturen einherging. Die Fieberkurven zeigten einen eigenartigen, von den bekannten abweichenden Verlauf.

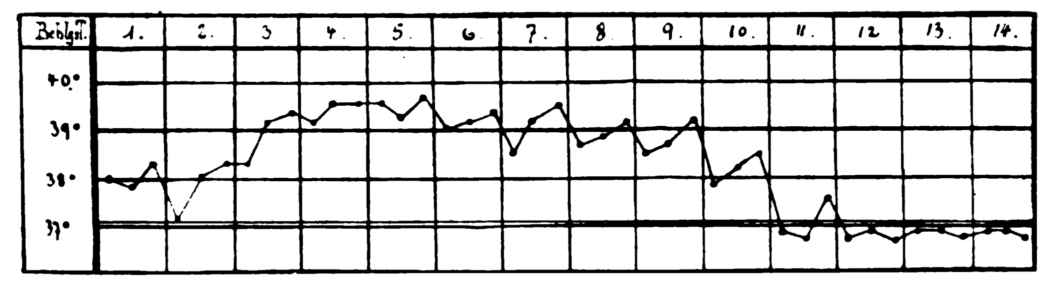
Die nebenstehenden Kurven (1 bis 4) zeigen den Fieberverlauf je eines Falles dieser vier Gruppen.

Erwähnen wir noch ein charakteristisches Zucken der Mundwinkel und des Unterkiefers, das bei den schweren Fällen, sowohl bei Europäern wie Chinesen, im Beginn der Erkrankung sichtbar wurde, das mit dem bei weinerlichen Erregungszuständen auftretenden Zucken der Mundwinkel verglichen werden kann, sowie eine in der zweiten Hälfte der Fieberperiode auftretende Schwerhörigkeit, die meist erst 8 Tage nach der Entfieberung schwand, so können wir damit die Reihe der erwähnenswerten Erscheinungen schließen.

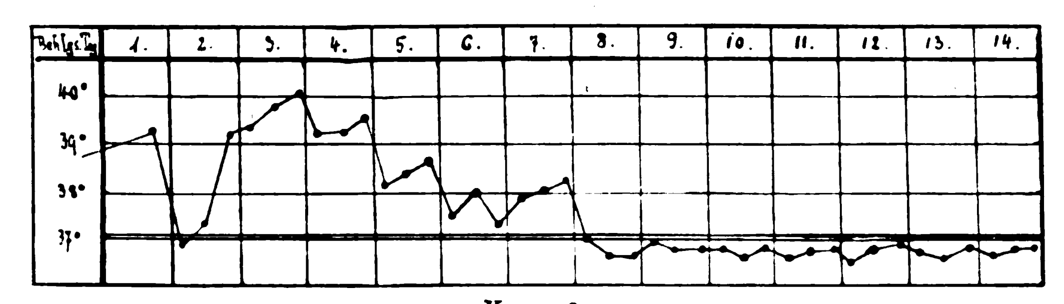
Untersuchungen über den Erreger des Fleckfiebers.

Bevor wir auf die eigenen Untersuchungen zu sprechen kommen, erscheinen einige einleitende Worte über frühere Forschungen auf diesem Gebiete notwendig. Das wesentlichste der Ergebnisse der zum Teil auf ein großes Krankenmaterial sich erstreckenden früheren Arbeiten über die Natur des Fleckfiebererregers war mir bei Beginn der Epidemie nur aus kurzen Referaten bekannt. Von den neueren Befunden, die in den Jahren 1909 und 1910 in Kiew bzw. Moskau erhoben wurden, sowie den tier-

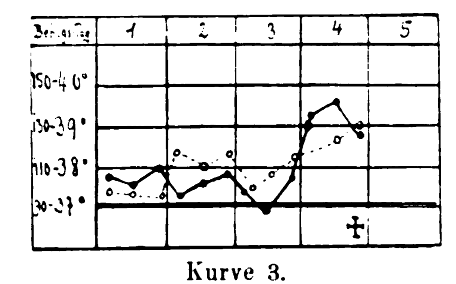




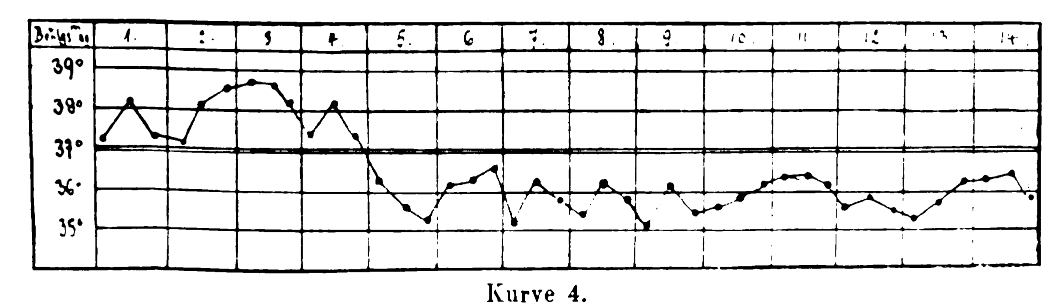
Kurve 1.
Fall mit typischem Verlauf.



Kurve 2.
Fall mit leichtem Verlauf.



Kurve 3.
Letal endigender Fall mit schwerem Verlauf.



Kurve 4.
Mit Untertemperatur verlaufender Fall.

experimentellen Untersuchungen des Jahres 1909 in Tunis hatte ich auch durch Referate keine Kenntnis, vielmehr wurde mir die Literatur auf Bestellung erst zugänglich, als die Epidemie erloschen und die Arbeiten über den Erreger zum größten Teil abgeschlossen waren. Der Hinweis hierauf erscheint aus doppeltem Grunde wichtig, weil daraus hervorgeht, daß meine Befunde, die eine große Ähnlichkeit mit denen der neueren Untersuchungen haben, unabhängig von diesen erhoben wurden, dann auch, weil dadurch sich erklärt, weshalb ich die Lehren, die bei diesen neueren Forschungen an größerem Krankenmaterial gewonnen wurden, bei meinen Untersuchungen nicht befolgte. Mit Kenntnis der neueren Erfahrungen wäre ich gewiß häufiger und müheloser bei meinen Untersuchungen zu positiven Befunden gekommen.

Was bis zum Jahre 1909 an Untersuchungen über die Natur des Fleckfiebererregers vorlag, war nicht sehr ermutigend für bakteriologische Untersuchungen. Während ein Teil der Forscher mit Bestimmtheit annehmen zu können glaubte, der Erreger sei nicht im Blute der Kranken zu suchen, fanden andere teils Bakterien, teils protozoenartige Gebilde, die meist mit größter Bestimmtheit als Erreger der Krankheit angesprochen wurden. Auch Protozoen und Bazillen wurden von einzelnen Untersuchern zugleich im Blute von Fleckfieberkranken gefunden. So neuerdings bei einer Epidemie in Budapest im Jahre 1908 (7), bei der einmal im Blute mit großer Regelmäßigkeit in fast allen Fällen ein Protozoon sich gefunden haben soll, das teils an Piroplasmen, teils an Malaria-Plasmodien erinnerte, dann aber auch in der Mehrzahl der Fälle sich im Blute der Kranken und im Leichenblute pathogene Bakterien, „namentlich Strepto-, Staphylokokken, Bacillus Friedländer, sowie der von Hlava 1888 in Prag nachgewiesene Diplo-Streptococcus fanden“. Der doppelte Befund veranlaßte die Autoren in diesem Falle zu dem Schlusse, daß „bei manchen Fällen, neben den ätiologisch verantwortlichen Protozoon, auch den erwähnten Bakterien eine gewisse Rolle zukommt“.

Bezüglich der früheren bakteriologischen und kulturellen Untersuchungen wird auf die neuere Zusammenstellung von Rabinowitsch (8) verwiesen, der die bisherigen Arbeiten in umfassender Weise zusammengestellt und kritisch beleuchtet hat. Weichen die Arbeiten bezüglich der Untersuchungsweise und -ergebnisse auch vielfach sehr voneinander ab, so findet man doch bei aufmerksamem Vergleich bei manchen etwas Gemeinsames: nämlich, daß es glückt, aus dem Blute bestimmte Bakterien zu züchten. Diese werden zwar von den einzelnen Entdeckern in ihrer Form verschieden, einmal als Coccus, ein andermal als Bacillus gedeutet, doch weisen einzelne Punkte in der Beschreibung eine solche Ähnlichkeit auf, daß man denken muß, es handele sich doch um identische Mikro-



organismen. Vorwiegend ist es die „meist paarweise oder in Ketten angeordnete Lagerung“ des Coccus, Diplococcus, Diplobacillus und Coccobacillus, „die fehlende oder geringe Färbbarkeit der Mitte der Bazillen, die den Eindruck von Polstäbchen oder Diplokokken hervorruft“, und „die Schwierigkeit der Züchtung auf künstlichem Nährboden“, was fast in allen Mitteilungen wiederkehrend hervorgehoben wird.

Die Ergebnisse der neuesten Untersuchungen, die die vorstehenden Behauptungen bestätigen, werden unten im Zusammenhang mit unseren Befunden besprochen werden.

Es wurden in allen unseren Fällen die für andere Infektionskrankheiten üblichen Arbeitsmethoden angewandt: die Blutentnahme aus der Vena mediana mit steriler 20 ccm - Spritze, Aussaat in Mengen von 2 bis 4 ccm in je 10 ccm (in einigen wenigen Fällen je 50 ccm) Pepton- oder Traubenzuckerbouillon, sowie zur Plattenaussaat in je 10 ccm Agar und später Aszites-Glyzerin-Agar. Die Brütung erfolgte meist aerob, in einigen Versuchen auch anaerob im Brutschrank bei 37°. Erschien die Bouillon getrübt, so wurde nach Untersuchung im hängenden Tropfen tropfenweise auf Agarplatten in Oberflächenaussaat weiterverimpft. Die Untersuchung von Organstücken erfolgte durch Aussaat in Bouillon und Ausstriche auf Agarplatteu.

Zu verschiedenen Zeiten der Krankheit wurden Blutausstrichpräparate nach Färbung mit Giemsalösung einer genauen Durchmusterung unterzogen. Erschien es uns auch nicht wahrscheinlich, daß Bakterien so zahlreich im Blute kreisen würden, daß sie sich im Ausstrichfärbepräparat nachweisen ließen, so war uns doch aus dem Grunde eine genaue Durchmusterung von Blutpräparaten unerläßlich, weil im Blute angeblich nachweisbare, protozoenartige Gebilde verschiedentlich als Krankheitserreger bei Typhus exanthematicus bezeichnet worden waren. Die in der Fleckfieberzeit gleichfalls zahlreich in Zugang kommenden Rückfallfieberkranken (von Ende Februar bis Anfang Juni = 43!) machten ebenfalls jedesmal eine genaue Blutuntersuchung im Infektionskrankenhause notwendig. Wurden doch verschiedentlich Rückfallfieberkranke wegen Fleckfieberverdacht dem Krankenhause überwiesen; besonders einige Fälle zeigten ein klinisches Bild, das bei oberflächlicher Betrachtung an Fleckfieber denken ließ. Da diese Fälle von allgemeinem Interesse sind, sollen sie hier kurz beschrieben werden: die Kranken zeichneten sich durch besondere Schwere des Krankheitsgefühls aus. Die Skleren, Haut und Schleimhäute wiesen eine mehr oder weniger deutliche ikterische Färbung auf. Vorwiegend an beiden Seiten des Bauches und an der Brust, an der Vorder- und Innenseite der Oberschenkel, seltener am Oberarm, fanden sich stecknadelknopf- bis hirsekorngroße dunkelbordeauxrote, rundlich scharf begrenzte,



auf Druck nicht verschwindende Flecke, meist zahlreich verstreut. Es bestand starke Schmerzhaftigkeit in der Lebergegend und deutlicher Milztumor. Die subjektiven Beschwerden waren vorwiegend Kopfschmerzen, Schmerzen in den Knien und Oberschenkeln, Schmerzen in der Lebergegend, allgemeine große Mattigkeit, geringe Benommenheit. Mit Abfall des Fiebers, das meist nur 1 bis 3 Tage anhielt, verschwanden die Flecke auffallend schnell. Die Blutuntersuchung ergab im Giemsafärbepräparat zahlreiche Rückfallfieberspirillen und ließ die Krankheit als die unter dem Namen „biliöses Typhoid" beschriebene Form des Rückfallfiebers erkennen. Von sechs beobachteten Fällen dieser Art verlief einer tödlich.

In keinem Falle von Fleckfieber fand sich bei der Untersuchung der mit Giemsalösung gefärbten Blutausstriche etwas Besonderes. Ein anderes Resultat ergab die Untersuchung von mit destilliertem Wasser ausgelaugten dicken Tropfen von Blut, die jedoch leider erst am Ende der Epidemie und nur in 3 Fällen ausgeführt wurden. Es wurden dabei einmal einige Stunden vor dem Exitus letalis und einmal einen Tag vor der Pseudokrisis kurze plumpe Bakterien im Blute nachgewiesen, die meist zu zweien aneinander gereiht lagen, etwa doppelt so lang wie breit, an den Enden abgerundet und teilweise in der Mitte schwächer gefärbt erschienen.

Auf Grund der anderorts gemachten guten Erfahrungen, sowie unserer beim Menschen und später bei Tierversuchen gehabten Erfolge mit Blutuntersuchungen im dicken Tropfen, möchten wir hier gleich diese Methode für Fleckfieberuntersuchungen angelegentlichst empfehlen; sie ist leicht ausführbar und wird gewiß in einer Reihe von Fällen zur Klärung des Krankheitsbildes wesentlich beitragen, besonders wenn sie zwischen dem 5. und 2. Tage vor der Entfieberung, der, wie wir sehen werden, für Blutuntersuchungen günstigsten Zeit, angestellt und mehrfach wiederholt wird.

Das Ergebnis der kulturellen Blutuntersuchungen war günstiger. Schon bei den ersten Aussaaten erschien auffallend, daß sich meist die Bouillon nach 24, oder 2 × 24 Stunden deutlich trübte, während die Kontrollen stets klar blieben. Dabei trat mehrfach über dem Blut eine hellrote Färbung der Bouillon auf (Hämolyse), die in den klarbleibenden, mit Blut von Gesunden angelegten Bouillonkontrollen fehlten. Während die Trübung bestehen blieb, bildete sich oft über dem zu Boden gesunkenen Blute ein feinklumpiger, grauweißer Bodensatz. Die weitere Untersuchung im hängenden Tropfen ließ häufig keine Bakterien erkennen. Mehrfach fanden sich einzelne, zu zweien und in Ketten liegende, unbewegliche, kurze Stäbchen mit stärker lichtbrechenden Polen und runde Kokkenformen, die, ohne daß eine Züchtung auf festen Nährböden gelungen wäre, im Verlauf der nächsten Tage verschwanden und Häufchen von kleinen körnigen Gebilden Platz machten, die den Eindruck zer-



fallener Bakterien hervorriefen. In diesem Eindruck wurden wir später bestärkt, als die Reinkulturen unserer aus dem Blute gezüchteten Kokko-Bazillen verschiedentlich in flüssigen Nährböden einen ähnlichen Zerfall zeigten. Der färberische Nachweis dieser Stäbchen gelang aus der Bouillon in den ersten Tagen in mehreren Fällen. Die Bakterien stellen sich als grampositive, kurze Einzel- und Doppelstäbchen dar, die auch in kurzen Ketten aneinander gereiht waren und oft so kurz erschienen, daß sie den Eindruck von Kokken machten. Bei Färbung mit verdünntem Karbolfuchsin war öfters die Mitte schwächer gefärbt, so daß Polstäbchen- oder diplokokkenähnliche Formen erschienen. Nachdem die ersten 6 Untersuchungen uns gezeigt hatten, daß sich in den Kulturen ein Mikroorganismus entwickelte, ohne daß es gelungen wäre, diesen auf festen Nährböden zu kultivieren, brachten an zwei aufeinander folgenden Tagen bei ein und demselben Kranken vorgenommene Blutentnahmen ein kulturelles Ergebnis, das die auf diese ersten Befunde gegründeten Vermutungen über ein im Krankenblut kreisendes Bakterium bestätigte. In der Bouillonkultur erschien nach 24stündiger Bebrütung die Reinkultur eines Stäbchens von gleicher Größe, Form, Lagerung und gleichem färberischem Verhalten; auf den Blutagarplatten wuchsen aus je 2 ccm Blut etwa 5 bis 6 zarte, grauweiße Kolonien des gleichen Stäbchens.

Auf diesen ersten eindeutigen Bakterienbefund soll hier etwas näher eingegangen werden, da er sich in der Folgezeit noch mehrfach in gleicher Art und Deutlichkeit wiederholte. Die Eigentümlichkeiten in Form und Wachstum, die sich hierbei ergaben, erscheinen uns typisch, da sie sich bei den späteren Untersuchungen in gleicher Weise wieder zeigten.

Der Kranke, ein Kuli aus der Chinesenstadt Tapautau, hatte einen schweren Krankheitsverlauf. Die Blutentnahme erfolgte 4 und 3 Tage vor dem kritischen Abfall der Körperwärme. Von wie großer Bedeutung der Zeitpunkt der Blutentnahme für den Ausfall der kulturellen Untersuchungen ist, zeigt sich späterhin deutlich. Im Zusammenhang wird dieser Punkt weiter unten besprochen. Das Blut wurde zu je 2 bis 3 ccm in 4 Kölbchen à 50 ccm Bouillon ausgesät. Die Bouillon war nach 24 Stunden deutlich, doch mäßig getrübt. Im hängenden Tropfen kurze, zarte Diplobazillen, zum Teil in kurzen Ketten zusammenhängend; auch kurze runde Formen, die für Kokken, bzw. Diplokokken gehalten werden konnten. Die Bakterien nehmen Gramfärbung zum größten Teil an, einzelne Bakterienformen zeigen schwache, bzw. nur teilweise Gramfärbung. Bouillon wird nach 24 und 2 × 24 Stunden tropfenweise auf Agaroberfläche ausgesät und ausgestrichen. Nach 2 × 24 Stunden erscheinen auf dem Impfstrich sehr feine, zarte, eben sichtbare, durchscheinende, grauweiße Kolonien. Im Ausstrichpräparate vorherrschend



kurze, zum Teil längere Einzel- und Doppelstäbchenformen mit runden Enden, zum Teil in der Mitte schwächer gefärbt als an den Polen.

Bei anaerober Züchtung erscheinen bei geringerer Trübung und langsamerem Wachstum in der Bouillon die gleichen Bakterien.

Auf den Blutagarplatten (etwa 2 ccm Menschenblut zu 10 ccm Agar) erscheinen nach 4 bis 5 tägiger Bebrütung deutlich sichtbare, vereinzelte, sehr zarte, grauweiße Kolonien eines Bacteriums von gleicher Beschaffenheit. Die nach 24 Stunden wiederholte Untersuchung hatte gleiches Ergebnis.

Eigenschaften des Bacteriums.

Das Bacterium ist in der Form und Größe sehr variabel. Besonders verändert es sein Aussehen bei der Züchtung auf verschiedenen festen und flüssigen Nährböden sehr, worauf wir unten noch besonders zurückkommen. Frisch aus dem Körper gezüchtet, erscheint es meist als kurzes, gedrungenes, etwa doppelt so langes als breites Stäbchen. Meist ist es in der Längsrichtung zu zweien aneinander gereiht, auch liegt es in kurzen Ketten von 4 bis 6 Stück zusammen.

Beweglichkeit: unbeweglich, zeigt deutliche Molekularbewegung.

Färbbarkeit: nimmt die gebräuchlichen Farblösungen gut an; bei Färbung frisch aus dem Körper gezüchteter Bakterien mit Karbolfuchsinlösung erscheint die Mitte oft schwächer gefärbt, so daß „durch einen Spalt getrennte oder polgefärbte Formen entstehen. Andeutungen von schmaler Kapsel zeigten sich vereinzelt (s. Taf. V und VI); doch wurden weder in Färbepräparaten von Gewebsausstrichen und Blut, noch aus Kulturen jemals deutliche Kapseln gesehen. Gramfärbung bei frisch aus dem Körper gezüchteten Bakterien war vorwiegend positiv, vereinzelte Formen nahmen die Gramfärbung schlecht an. Nach längerer Züchtung auf künstlichen Nährböden herrschen gramnegative Formen im Färbepräparat vor.

Agarplattenwachstum: a) natürliche Größe, Oberflächenkolonien: sehr zarte, glasig-helle, grauweiße Kolonien, gleichmäßig leicht erhaben; tiefliegende Kolonien: punktförmig grauweiß. b) 60fache Vergrößerung: aufliegende Kolonien gleichmäßig fein gekörnt, mit scharfem, unregelmäßig flach gebuchtetem Rand, ohne Saum (s. Taf. V, Fig. 1). Manchmal erscheinen bei älteren Kulturen einzelne Kolonien makroskopisch von leicht wallartig erhobenem schmalen Rand umgeben, der bei 60 facher Vergrößerung deutlich hervortritt (s. Taf. V, Fig. 1); tiefliegende Kolonien: kleiner, etwas gröber gekörnt. Entwicklung auf Agarplatten sehr langsam und zart. Nicht immer gelingt das Wachstum auf 3 prozent. Peptonagar, besonders nicht immer bei frisch aus dem Körper gezüchteten Stämmen.



Gelatine: nicht verflüssigend; sehr zartes, grauweißes Wachstum entlang dem Oberflächenimpfstrich. In Gelatinestrichkultur längs des Impfstrichs sehr zartes, grauweißes Wachstum.

Peptonbouillon: sehr geringe, langsam auftretende Trübung; allmähliche Bildung eines grauweißen flockigen Niederschlages und nicht sehr reichlichen Bodensatzes. Bei frisch aus dem Körper gezüchteten Kulturen bleibt das Wachstum in Peptonbouillon manchmal aus. In Aszites-Glyzerinbouillon entsteht dagegen schon nach 24 Stunden deutliche gleichmäßige Trübung, später geringer, etwas schleimiger Bodensatz. In Traubenzuckerbouillon: Wachstum ähnlich wie in Peptonbouillon, etwas stärkere Trübung und Bodensatz.

Auf von Drigalski-Conradischem Agar: sehr langsames, zartes Wachstum; nach etwa 6 Tagen stecknadelkopfgroße, blaue, glänzende Kolonien, Rand etwas erhaben. Mitte leicht spitz gebuckelt; zusammengeschabte Kolonien zeigen hellblauen Farbstoff; Kolonien bei 60 facher Vergrößerung: gleichmäßig fein gekörnt, denen auf Agar gleichend.

Milch: auch bei mehrwöchiger Beobachtung unverändert; ganz geringe Säurebildung vereinzelt nachweisbar.

Neutralrot: unverändert; kein Oberflächenwachstum.

In Lackmusmolke: geringe Säurebildung und Trübung. Traubenzucker, Milchzucker, Saccharose und Maltose in Lackmusnutroselösung: abgesehen von geringer Trübung der Lösung unverändert; in Traubenzucker-, Saccharose- und Maltose-Lackmusnutroselösung sahen wir einige Male eine ganz geringe Säurebildung, kenntlich an einem „Stich ins Rote“ auftreten. In Milchzuckerlösung sahen wir nie, abgesehen von geringer Trübung und Bodensatz, Veränderungen auftreten. Diese geringe Rötung der Zuckerlösungen trat einige Male erst nach längerer Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden vereinzelt auf, meist fehlte sie auch bei längerer Fortzüchtung. Gasbildung in Zuckerlösungen wurde indes bei frischen und alten Kulturen nicht beobachtet.

Kartoffel: sehr zartes, kaum sichtbares, glänzend grauweißes Wachstum längs des Impfstrichs.

Bessere Wachstumsbedingungen, als der gewöhnlich benutzte Peptonagar bietet der Aszites-Glyzerinagar von schwacher Alkalität, der durch Zusatz von 20 ^{ccm} Aszites und 5 ^{ccm} Glyzerin zu 100 ^{ccm} 3 prozent. Agar mit 1 Prozent Peptonzusatz bereitet wurde. Die Agarschrägkultur erscheint hier nach 24 Stunden zart, glasig durchscheinend, grauweiß; der Rand des Impfstrichs flach gebuchtet, ohne Saum.

Auf Löfflerserum wuchsen die Bakterien kurz nach der Isolierung aus dem Körper sehr schlecht. Erst nach längerer Umzüchtung wurde

das Wachstum kräftiger. Auf Löfflerserum sahen wir vereinzelt die Kulturen im Laufe der Zeit üppig, schleimig-fadenziehend werden, besonders im Wachstum bei niederen Temperaturen. Etwas geringere Alkalität, als die gewöhnliche, war für das Wachstum günstig. Eine geringe Gelbfärbung des Bakterienrasens trat auf Löfflerserum in die Erscheinung.

Die günstigsten Wachstumsbedingungen erhielten wir auf einem Nährboden, der durch Zusatz von 20 ccm Menschen- bzw. Kinderblut + 5 ccm Glyzerin zu schwach alkalischem 3 prozent. Agar bereitet wird. Die schon oben erwähnte in der Originalbouillonkultur erscheinende hämolytische Eigenschaft des Bacteriums äußerte sich auch auf den Blutagarplatten, blieb jedoch im Laufe längerer Umzüchtung auf künstlichen Nährböden nicht konstant. Mehrfach ging die Eigenschaft der Hämolyse bei längerer Umzüchtung verloren. Bemerkenswert ist ein Stamm, der sich, frisch aus dem Körper gezüchtet, als stark hämolytisch erwies. Bei längerer Züchtung auf Aszites-Glyzerin-Agar und Löfflerserum verschwand die hämolytische Eigenschaft. Im Verlauf mehrfacher Weiterimpfungen auf Menschenblut-Glyzerin-Agar traten dann zwischen nichthämolytischen Kolonien solche mit hämolytischer Eigenschaft auf, die späterhin diese Eigenschaft bewahrten. Merkwürdigerweise zeigte die hämolytische Kultur, die sonst in allem der nichthämolytischen glich, eine eben nachweisbare Säurebildung in den Zuckerlösungen, die bessere Färbbarkeit nach der Gramschen Methode und das kümmerliche Wachstum auf Löfflerserum, Unterschiede, die sich späterhin bei Weiterzüchtung auf nichtbluthaltigen Nährböden wieder ausglichen.

Oben machten wir bereits auf die große Verschiedenheit in Form, Größe und Lagerung der Bakterien aufmerksam, die besonders bei Züchtung auf verschiedenen Nährböden hervortrat. Dieses Verhalten scheint für das Bacterium so charakteristisch und dessen Kenntnis für das Auffinden des Mikroorganismus so notwendig, daß im Zusammenhang noch einige Worte darüber folgen sollen.

In der Originalbouillonkultur erschienen bereits, wie erwähnt, bei unseren Blutuntersuchungen neben den plumpen Stäbchen, Doppel- und Kettenstäbchen, Bakterienformen vom Aussehen von Kokken, Diplokokken und Streptokokken. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen sahen wir bei Züchtung auf verschiedenen, festen und flüssigen Nährböden alle diese Formen vom runden Einzelcoccus bis zum in Ketten aneinanderliegenden Fadenbacterium auftreten. Je nach Zusammensetzung und Art des Nährbodens war die eine oder die andere Art vorherrschend, daneben stets Übergänge zu den anderen Formen vorhanden.

Vorwiegend eine deutliche Stäbchen-, bzw. Doppelstäbchenform entwickelte sich stets auf den als günstig erkannten Nährböden, wie Aszites-



Glyzerin, Agar und Blutagar (s. Taf. V, Figg. 3 und 4). Auf Löfflerserum traten die kurzen Formen, besonders die Kokken und Diplokokkenformen in den Vordergrund, dies besonders in den ersten Kulturen, die, wie erwähnt, nur eine dürftige Entwicklung zeigten (s. Taf. VI, Fig. 5). In Bouillon sahen wir meist kurze Ketten der verschiedenen Formen meist kurze Stäbchen; besonders im Bodensatz, der in Aszites-Glyzerin-Bouillon mit der Zeit leicht schleimige Beschaffenheit annahm, fanden sich kurze Ketten wohl charakterisierter Stäbchen (s. Taf. VI, Fig. 6). Längere Fäden kamen in älteren Kulturen auf von Drigalski-Conradischem Agar zur Beobachtung, neben denen jedoch die anderen kürzeren Formen nie zu fehlen pflegten. Aus der schlechten Färbbarkeit dieser Fäden konnte man schließen, daß es sich hierbei um Degenerationsformen handelte (s. Taf. VI, Fig. 7). Auf weniger günstigen Nährböden, wie trockenen oder längere Zeit bebrüteten Agarplatten und in älteren Kulturen überhaupt sahen wir mehrfach Involutionsformen der verschiedensten Gestalt auftreten, die den beim Pestbacillus bekannten ähnlich waren, dickere gebogene Stäbchen mit spitz verlaufendem, abgerundetem oder einseitig zu einer Kugel verdicktem Ende und runde Scheiben (s. Taf. VI, Fig. 8).

Die Lebensfähigkeit des Bacteriums ist anscheinend nicht groß. Mehrfach starben frisch aus dem Körper gezüchtete Bouillon- und Aszites-Agar-Reinkulturen schon nach wenigen Tagen bei Brutschranktemperatur ab. Bei niedrigen Temperaturen halten die Bakterien sich länger lebensfähig, doch konnten wir auch hier mehrfach nach 2 bis 3 wöchiger Aufbewahrung bei Eisschranktemperatur kein Wachstum mehr erzielen. Hand in Hand mit der geringen Lebensfähigkeit scheint eine schnelle Abnahme der Pathogenität zu gehen, wovon später noch die Rede ist.

Insgesamt wurde das Blut von 42 Fleckfieberfällen kulturell untersucht. Von diesen ergab die Bouillonkultur in 16 Fällen ein Wachstum unseres Bacteriums, das im hängenden Tropfen, bzw. Färbepräparat nachgewiesen wurde. Eine Weiterzüchtung der Kultur auf festem Nährboden gelang jedoch nur in 7 Fällen. Es sei hier bemerkt, daß meist zur Weiterkultur nur Peptonagar benutzt wurde. Erst das Studium des Wachstums der Reinkultur veranlaßte uns geeignetere Nährböden wie Aszites-Glyzerin-Agar, Aszites-Glyzerin-Bouillon, sowie Blutagar mit geringerem Alkaligehalt zur Weiterkultur zu benutzen.

Zweimal erschienen die Kolonien auf den gleichzeitig angelegten Blutagarplatten (nicht immer wurden Blutagarplatten gleichzeitig, sondern meist nur Bouillonkulturen allein angelegt). Bei Aussaat von etwa 2 ^{ccm} Blut zu je 10 ^{ccm} Agar entwickelten sich auf der Platte etwa 3 bis 6 Kolonien.

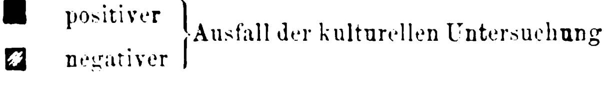


Die Leichenöffnung wurde nur bei den drei im Infektionskrankenhause „Höhenlager“ Verstorbenen gemacht. Die inneren Organe zeigten nur geringe krankhafte Veränderungen; die Leber war groß, dunkel, blutreich, von fester Beschaffenheit; die Milz erwies sich in 2 Fällen vergrößert. In aus Leber und Milz angelegten Kulturen (Ausstrich auf Agarplatte und Aussaat in Bouillon) konnten in 2 Fällen unsere Bakterien in Reinkultur gezüchtet werden. Die positiven Bouillonkulturen zeigten eine Lösung des Blutfarbstoffs, die durch eine, einige Zentimeter hoch über den Organstücken stehende, hellrote Flüssigkeitsschicht sich anzeigte. Im Verlauf des Impfstriches wuchsen aus den Organausstrichen auf den Agarplatten die Kolonien sehr langsam und sehr klein und waren erst nach 3 bis 4 Tagen makroskopisch deutlich erkennbar. In beiden Fällen war kurz vor dem Tode das Bacterium schon aus dem Blute isoliert worden. Im letzten Falle, bei dem die Organstücke auf Aszites-Glyzerin-Agarplatten ausgestrichen wurden, waren die Kolonien auf dem Impfstrich zahlreicher erschienen, gleichfalls zart und glasig durchscheinend, erst nach 4 Tagen makroskopisch deutlich erkennbar, bei sechzigfacher Vergrößerung gleichmäßig fein gekörnt, rund, groß, flach-buchtig gerandet, ohne Saumbildung.

Die Eigenschaft des schnellen Absterbens der Kultur im Verein mit den hohen Ansprüchen, die das Bacterium an die Zusammensetzung des Nährbodens stellt, bieten schon allein eine Erklärung für die vielen kulturellen Mißerfolge. Die verhältnismäßig große Zahl der negativen Befunde (bei unseren Untersuchungen) veranlaßte uns, noch nach einer anderen Ursache zu suchen. Ein interessantes Resultat erhalten wir, wenn wir das Ergebnis der kulturellen Untersuchung mit dem Zeitpunkt des Krank-

Tabelle II.

Zahl der positiv. u. neg. Fälle
9 8 7 6 5 4 3 2 1
Tage vor Entfiebg bzw. †
13 12 11 10 9 7 6 5 4 3 2 1



heitsverlaufs vergleichen, in dem die Blutentnahme stattgefunden hat. Ohne Zweifel kann dieses wesentlich zur Erklärung der Zahl der negativen Befunde beitragen.

Tabelle II stellt das Ergebnis der Untersuchungen dem Zeitpunkt der Krankheit gegenüber, in dem die Blutentnahme stattfand; sie zeigt ohne weiteres, daß bei 4, 3 und 2 Tagen vor der Entfieberung bzw. dem Exitus letalis vorgenommener Untersuchung die Aussichten für die Isolierung der Bakterien aus dem Blute am günstigsten sind.

Besondere Erwähnung verdienen hier die eingangs erwähnten vier schwer verlaufenden Fälle, bei denen die Blutentnahme auch wenige Tage vor dem Exitus letalis stattfand. Hier gelang mit einer Ausnahme die Züchtung und Weiterkultur des schon nach 24 Stunden sehr reichlich in der Bouillon gewachsenen Diplobacillus leicht. Diese Fälle bilden somit eine Bestätigung der Tabelle II. Ob im Beginn der Krankheit die Bakterien zu vereinzelt im Blute kreisen, oder ob die natürlichen Schutzstoffe des Körpers, noch ungeschwächt durch den Kampf mit dem Krankheitserreger, zu sehr hemmend auf das Wachstum der Bakterien auf künstlichem Nährboden einwirken, muß dahingestellt bleiben. Wahrscheinlich wirken beide Momente zusammen. Nach unseren Untersuchungen steht jedenfalls fest, daß eine Kultivierung aus Blut, das früher als am 6. Tage vor Entfieberung oder Tod entnommen wurde, wenig Aussicht auf ein positives Ergebnis bietet.

Unser Bacterium gleicht in vielen Punkten dem Streptococcus pyogenes, sowohl im Wachstum auf künstlichen Nährböden und im Aussehen der Agaroberflächenkolonien, wie in dem Verhalten auf verschiedenen differenzierenden Kulturmedien, dem Wechsel der hämolytischen Eigenschaften und wie wir später sehen werden, den pathogenen Eigenschaften für Versuchstiere. Abweichungen finden sich zunächst im mikroskopischen Aussehen, dann in der Färbbarkeit nach Gram und dem Verhalten in Milch. Vorläufig müssen wir auf Grund unserer Ergebnisse annehmen, daß wir es mit einer Form oder Unterart des Streptococcus pyogenes zu tun haben, deren verschiedene Varietäten zu charakterisieren zwar vielfach versucht, doch noch nicht erfolgreich gelungen ist.

Der Streptococcus pyogenes ist als Erreger einer großen Anzahl von Erkrankungen auch septikämischer Art beschrieben worden. Die Frage, ob unser ihm in vielem gleichendes Bacterium bei unseren Fleckfiebererkrankungen als ätiologisches Moment eine alleinige Rolle spielt, oder ob es nur Begleit- oder sekundäre Erscheinung ist, können wir an Hand des uns nur kärglich zur Verfügung stehenden Materials heute nicht entscheiden. Auffallend bleibt, daß



1. das Bacterium in so vielen Fällen (38 Proz.) der Fleckfiebererkrankungen sich nachweisen ließ, während es in den vielen von uns bei anderen Krankheiten angestellten Blutuntersuchungen nie in die Erscheinung trat,

2. sich bei mit Blut von Fleckfieberkranken geimpften Versuchstieren, wie wir später sehen werden, das Bacterium findet und in Reinkultur aus deren Organen gezüchtet werden kann, und

3. bei anderen Epidemien in verschiedenen Ländern Befunde von großer Ähnlichkeit, um nicht zu sagen Gleichheit, unabhängig voneinander erhoben wurden.

Die Agglutinationsversuche im Patientenserum hatten kein eindeutig positives Resultat. Die verschiedenen Stämme zeigten kurz nach der Isolierung aus dem Körper auch in physiologischer Kochsalzlösung und in Normalserum makroskopisch eine Krümelung und mikroskopisch Zusammenlagerung, die Agglutination vortäuschte. Deren Prüfung war somit unausführbar. Bei längerer Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden erhielten wir Kulturen, die von Normalserum unbeeinflußt blieben; doch stand uns dann nur noch längere Zeit aufbewahrtes, verdünntes Patientenserum und das Serum der letzten Rekonvaleszenten zur Verfügung.

Bei den zuerst makroskopisch im Reagensglas angestellten Agglutinationen, bei denen die Kontrollen gleichfalls Zusammenballung der Bakterien zeigten, fiel uns auf, daß im Patientenserum mehrfach die bald auftretende Zusammenballung nach 24 Stunden beim Schütteln bestehen blieb, während nach dieser Zeit in den Kontrollen der Bodensatz beim Schütteln sich gleichmäßig verteilte. Diese Erscheinung ließ sich in einem Falle, 12 Tage nach der Entfieberung, bis zu einer Verdünnung von 1:160 verfolgen. Später erhielten wir vereinzelt 7 bis 8 Tage nach der Entfieberung Agglutinationswerte von 1:40 bei negativer Kontrolle im Normalserum.

Sichere Schlüsse lassen sich aus diesen geringen Resultaten keineswegs ziehen, doch erscheint auf Grund der vielen negativen Agglutinationsversuche, vorausgesetzt, daß man unseren Bakterien eine ätiologische Bedeutungfür den Typhus exanthematicus zuspricht, der Rückschluß erlaubt, daßbei der Fleckfiebererkrankung ähnlich, wie bei Pest, Pneumonie u. a., nur in geringem Maße eine Bildung von Agglutininen erfolgt. Eine Stütze für diese Annahme bilden einige Tierversuche, die bezweckten, durch Impfung von Tieren mit steigenden Kulturmengen ein Agglutinationsserum zu erhalten. Trotzdem, wie wir später zeigen werden, Kaninchen und Affen für eine Infektion mit Fleckfieberblut bzw. unseren Diplobazillen empfänglich sind, traten bei mehrwöchiger Behandlung mit anfänglich abgetöteten und später lebenden Kulturen in steigenden Mengen keine Agglutinine im Blute auf.



Neuere Untersuchungsresultate im Vergleich mit den hier gewonnenen.

Nachdem die vorstehend berichteten Ergebnisse festgelegt waren, erhielten wir Kenntnis von einigen in neuester Zeit veröffentlichten Beiträgen zur Ätiologie des Flecktyphus (8, 9, 10, 11).

Hatten schon die eingangs besprochenen Befunde früherer Forscher unverkennbare Ähnlichkeiten mit unseren, so wurde man beim Studium der neuesten Forschungsresultate entschieden zu der Annahme gedrängt, daß es sich bei den dort und hier nachgewiesenen Bakterien zum Teil um identische Mikroorganismen handele. Was die Arbeiten unter sich und mit den unsrigen gemeinsam haben, sei im folgenden gezeigt.

1. Rabinowitsch einerseits und Predtjetschensky andererseits konnten im Blutpräparat (Giemsafärbung) teilweise unter Anwendung der Zentrifuge fast stets ein Stäbchen mit abgerundeten Enden nachweisen, dessen plumpe Formen meist paarweise mit dem langen Durchmesser aneinandergereiht lagen und eine hellere mittlere Zone aufwiesen. Hervorgehoben wird das Wechselnde in der Form, Übergänge von der Stäbchen- zur Kokkenform.

2. Kulturversuche blieben, wenn sie, wie sonst üblich, angestellt wurden, negativ. Doch konnte Rabinowitsch aus Kondenswasser der Agarkultur und aus Bouillon in gefärbten Ausstrichpräparaten die Bakterien nachweisen. Das gleiche gelang uns aus Bouillon, auch wenn sie, auf feste Nährböden übertragen, keine Weiterentwicklung von Bakterien ergab.

3. Beide Forscher heben hervor:

a) Die Notwendigkeit der Entnahme von Untersuchungsmaterial in einer ganz bestimmten Zeit der Krankheit (R. zwischen dem 6. bis 14. Krankheitstag, P. zwischen dem 6. bis 9. Krankheitstag), um positive Resultate zu erhalten, Angaben, die mit den unserigen übereinstimmen, wenn man die verschiedene Dauer und Schwere der Fälle bei den einzelnen Epidemien in Rechnung zieht;

b) die mehrfach vorhandene Unmöglichkeit einer Weiterzüchtung der Bakterien auf festen Nährböden trotz ihres sicheren Nachweises in Bouillon oder Agaroberflächenkulturen;

c) das auffallend schlechte Wachstum (langsam und zart) der Kolonien, die oft am 3. Tage nach der Impfung auf der Agaroberfläche noch nicht sichtbar waren;

d) das auffallend geringe Wachstum der frischen Kulturen in Bouillon, in der meist keine deutliche Trübung, sondern nur Flockenbildung und grauer Bodensatz auftraten;

e) die sehr wechselnde Form des Stäbchens, abhängig von dem Alter und der Zusammensetzung des Nährbodens, alle Formen vom runden Coccus bis zum Fadenbacterium zeigend.

Die Ähnlichkeiten mit unseren Befunden liegen auf der Hand.



Auf differenzierenden Nährböden verhalten sich die Bakterien auch ähnlich, wie die unserigen.

Auf Gelatine zeigt sich keine Verflüssigung; in traubenzuckerhaltiger Bouillon sieht P. keine Gasbildung auftreten; R. macht über Verhalten in diesem Nährmedium keine Angaben.

Auf Kartoffel sieht R. kein wahrnehmbares Wachstum, P. Wachstum in einer ziemlich dichten, mattgrauen Schicht.

Eine Abweichung findet sich in der Färbbarkeit nach Gram. R. beschrieb sein Stäbchen als grampositiv. P. das seine in der ersten Mitteilung als gramnegativ. Doch bringt die zweite Mitteilung die Angabe, bei mehrfacher Überimpfung trete entweder bei einzelnen Individuen der Reinkultur Gramfärbung auf, oder alle auf dem einen Nährboden gezüchteten Formen seien grampositiv, alle auf einem anderen gezüchteten gramnegativ. Eine Verschiedenheit in der Gramfärbung ergaben auch unsere Untersuchungen; wir sahen anfangs neben grampositiven vereinzelte Individuen der Reinkultur die Gramfärbung gar nicht oder schlecht annehmen, später in den Kulturen gramnegative Formen überwiegen.

R. macht keine Angaben über Verhalten der Reinkulturen in Milch. P. sah langsam, am 3. und 4. Tage Milchgerinnung auftreten.

Auf v. Drigalski-Conradischem Agar wuchs das Bacterium von P. in üppigen, blauen Kolonien, die sich später vom Rande her röteten. Wir sahen auf diesem Nährboden stets nur zart und klein wachsende, blaue Kolonien, auch in älteren Kulturen keine Rötung.

Das von P. an einer Stelle beschriebene üppige Wachstum der Bakterien auf verschiedenen Nährböden, besonders das Dickflüssigwerden der Bouillon, das üppige, grauweiß-glänzende Wachstum auf Agar und die klebrige Trübung des Kondenswassers haben wir nie beobachtet, desgleichen nicht die nach mehreren Tagen auftretende Milchgerinnung. Möglich ist ja, daß diese Eigenschaften sich infolge längerer Fortzüchtung oder auf Grund von Verschiedenheit der Zusammensetzung und Reaktion der Nährböden entwickelt haben. Vielleicht ist darauf auch die stärkere Säurebildung in traubenzuckerhaltigen Nährböden, sowie das üppigere Wachstum auf Kartoffel zurückzuführen. Doch entstehen hierdurch einige Zweifel an der Identität des Mikroorganismus.

Was die Agglutination des Bacteriums im Patientenserum angeht, so haben weder R. noch P. unseres Erachtens beweisende Resultate erhalten. R. führt einen Fall von Agglutination an in Verdünnung 1:2560 des Serums eines Patienten, der „seit einigen Tagen“ den Krankheitsfall überstanden hatte. Da eine Angabe über Kontrollversuche in Normalserum

bei diesem Falle fehlt, R. jedoch später in allen Kontrollen einen gleich großen Niederschlag konstatierte, wie im Patientenserum, ist dieser vereinzelte Befund jedenfalls mit großer Vorsicht aufzunehmen. Von seinen späteren Versuchen sagt R. selbst, daß er in den Fällen, in denen die Agglutination scheinbar gelungen ist, dies nicht mit Sicherheit behaupten könne, da in der Kontrolle ein gleich großer Niederschlag aufgetreten sei.

Die erste Mitteilung von P. enthält die Angabe positiver Agglutination in Verdünnung 1:10 des Patientenserums in 1 Stunde, 1:20 in 2 Stunden, 1:40 in 4 Stunden. Weitere Verdünnungen blieben negativ. Ob die Agglutination makroskopisch oder mikroskopisch angestellt wurde, ist nicht gesagt. Die zweite Mitteilung enthält nur die Resultate der nach einer von Bezançon und Griffon für Pneumokokkenkulturen vorgeschlagenen Methode ausgeführten Prüfung im Färbepräparat, die angeblich positiv ausfielen. Da Angaben über Alter des Serums und Verdünnung fehlen, lassen sich aus diesen Versuchen auch keine Schlüsse ziehen.

Demgemäß stimmen auch die Agglutinationsresultate mehr oder weniger mit den unserigen überein insofern, als Agglutinationen entweder infolge der Krümelung der Reinkultur nicht ausführbar waren, oder nur ganz geringe Agglutinationswerte für Patientenserum festgestellt werden konnten.

Von einigen anderen neueren Untersuchungen lagen uns nur kurze Referate vor. Da somit eine Beurteilung dieser Ergebnisse schwer ist, seien die Resultate hier nur kurz angeführt.

McCampell (14) gelang es in 8 von 21 Fällen, in Blutausstrichen aus den Flecken des Exanthems Fleckfieberkranker Mikroorganismen darzustellen, jedoch spärlich und nur mit Hilfe von Karbolthioninfärbung. Sie machten anfangs den Eindruck von Diplokokken, erwiesen sich später aber als Bazillen mit Polfärbung. Kulturversuche blieben auf den verschiedensten Nährböden ergebnislos. Wilson (15) konnte in 15 von 33 Fällen aus dem Blute eigentümliche Diplokokken züchten, die vom Blutserum der Kranken agglutiniert wurden. Genauere Angaben enthält das Referat nicht. Gavinno und Girard (16) fanden im Blute von Fleckfieberkranken in Mexiko zuweilen bazillenähnliche Körper von 1 bis 2 μ Länge, die sich nicht züchten ließen.

Manche Ähnlichkeiten dieser Befunde mit den unserigen sind unverkennbar; genaues läßt sich leider beim Fehlen der Originalarbeiten heute nicht sagen.



Tierversuche.

Die Tierversuche scheiden sich in Impfungen mit Blut von Fleckfieberkranken und solche mit Reinkulturen.

Das Blut, das in gleicher Weise wie für die Kulturen entnommen wurde, verimpften wir sobald als möglich, spätestens 2 Stunden nach der Entnahme, mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, subkutan oder intraperitoneal an die Tiere.

Das meiste Interesse beanspruchen von den Tierversuchen die Impfungen der Affen. In den beiden letzten Jahren sind verschiedentlich erfolgreiche Versuche der Übertragung von Fleckfieber auf Affen mitgeteilt worden. Von den Ergebnissen dieser neueren Arbeiten erhielten wir auch erst gegen Schluß unserer Versuche Kenntnis. Sie werden später in Zusammenhang mit den hiesigen Resultaten besprochen werden.

Die ersten 3 Affen, die zu Beginn der Fleckfiebererkrankungen geimpft wurden, waren schon mehrere Jahre im Tierstall des Laboratoriums gehalten worden. Die übrigen, die aus Kalkutta neu beschafft wurden, kamen frisch aus der Wildnis. Infolgedessen waren sie schwer zu behandeln, besonders machte die Temperaturmessung, die stets im After erfolgte, anfangs Schwierigkeiten. Doch konnten die Versuche fast durchweg ohne Störung durchgeführt werden.

Affe I.

Männlicher Macacus rhesus, Gewicht 2500 ^{grm}, wird an der rechten Bauchseite subkutan mit 2 ^{ccm} Blut von Fall 376, verdünnt mit 2 ^{ccm} phys. Kochsalzlösung geimpft.

Bei Fall 376[1] handelte es sich um einen schweren Fleckfieberfall; Blutentnahme am 10. Krankheitstage bei starker Benommenheit, 2 Tage vor dem Exitus letalis. Kulturell im Blute vom gleichen Tage Diplobazillen nachgewiesen.

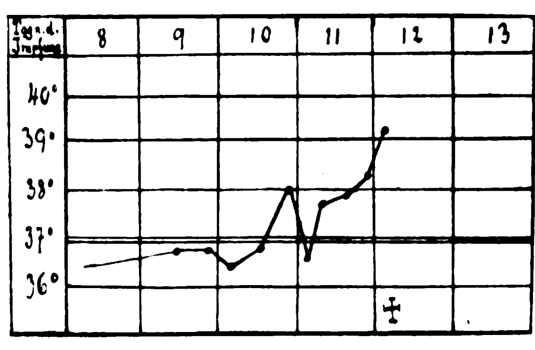
Die Temperaturmessungen erfolgten erst vom 9. Tage nach der Impfung an (siehe Kurve 5).

Am 4. Tage nach der Impfung machte der Affe vorübergehend einen schlappen Eindruck und stützte sich zeitweilig gegen Boden und Wand des Käfigs ab. Aussehen dann wieder regelrecht bis zum 10. Tage; kranker Eindruck, teilnahmlos, freßunlustig, Stuhl wird dünnbreiig, abends Fieber. Am 11. Tage Zunahme der Erscheinungen, Diarrhöe, abends Fieber. Am 12. Tage morgens Fieber. Exitus unter Zeichen allgemeiner Entkräftung.

[1] Die Zahlen bedeuten die laufenden Nummern des Laboratorium-Journals, in dem jedes eingelieferte Untersuchungsmaterial fortlaufend gebucht wird.



Sektion ergibt: starke Füllung der Gefäße des Unterhautzellgewebes an der Impfstelle, Leistendrüsen beiderseits, besonders rechts, bohnengroß geschwollen, leicht hämorrhagisch. In der rechten Achselhöhle erbsengroße hämorrhagische Drüse. Gefäße in der Umgebung stark gefüllt. Leber groß, sehr blutreich. Milz groß, fest. Gefäße des Mesenteriums stark gefüllt. Mesenterialdrüsen erbsengroß. Auf der Lungenoberfläche feinste blutrote Verästelungen, Lunge sonst ohne Besonderheiten.



Kurve 5.

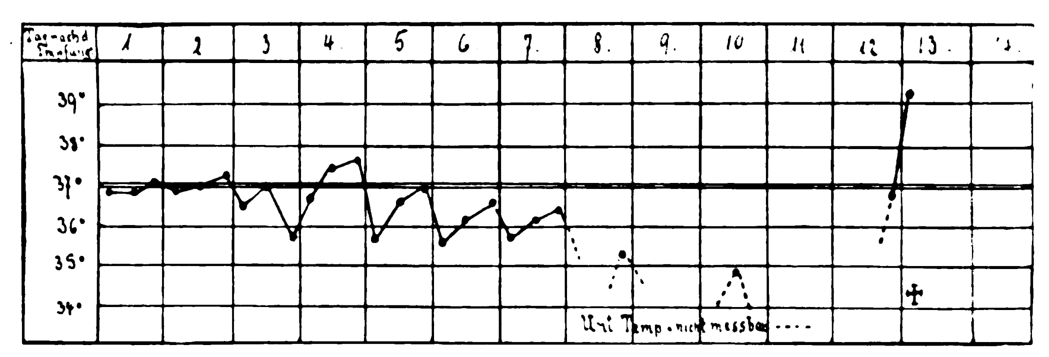
In den gefärbten Organ- und Blutausstrichen nichts Besonderes. Kulturelle Untersuchung der Organe: Leberbouillon zeigt nach 24 Stunden geringe Trübung, keine Bakterien; nach 2×24 Stunden stärkere Trübung, kurze unbewegliche Stäbchen und Doppelstäbchen, grampositiv. Leberagarausstrich nach 24 Stunden kein Wachstum. Nach 4 Tagen kleine runde, glänzende Kolonien auf dem Impfstrich; im hängenden Tropfen neben Stäbchen und Doppelstäbchen, wie aus Bouillon, aufgetriebene Stäbchen und Kugelformen. Die weitere Kultur der aus Bouillon und Agaroberfläche gezüchteten Bakterien ergibt gleiches Verhalten wie unser Diplobacillus. Milzbouillon- und Agarkulturen: wie Leber. Ausstrich von Achseldrüse auf Agar zeigt nach 3×24 Stunden zwischen schon vorher deutlichen Staphylokokkenkolonien (Verunreinigungen!) dieselben zarten Kolonien wie Leber- und Milzausstrich. Bouillonkultur von Staphylokokken überwuchert.

Affe II.

Weiblicher Macacus rhesus, Gewicht 2200^{grm}, wird subkutan an rechter Bauchseite mit 3^{ccm} Blut (verdünnt mit 3^{ccm} physiolog. Kochsalzlösung) und intraperitoneal mit 1^{ccm} Blut (verdünnt mit 1^{ccm} physiolog. Kochsalzlösung) von Fall 380 geimpft.

Fall 380, Chinese mit ausgesprochener, schwerer Fleckfiebererkrankung. Blut 3 Tage vor kritischem Abfall des Fiebers entnommen. Am Tage vorher und am gleichen Tage Diplobazillen aus dem Blute gezüchtet. Affe zeigt am 4. Tage gleiches Verhalten wie Affe I: vom 8. Tage an, ohne daß wahrnehmbare Krankheitserscheinungen auftreten, zeitweise nicht meßbare Untertemperaturen. Vom 10. Tage an zunehmende Mattigkeit, Freßunlust, beginnende Diarrhöen. Mit zunehmender Mattigkeit am 12. Tage abends Anstieg der Körperwärme, Diarrhöen. Am 13. Tage morgens Fieber (39°), Exitus (siehe Kurve 6).

Sektion ergibt: starke Füllung der Gefäße und kleine Hämorrhagien im Unterhautzellgewebe an der Impfstelle. Lymphdrüsen beiderseits gut bohnengroß, besonders rechts blutreich hämorrhagisch. Leistendrüsen rechts erbsengroß. In der Bauchhöhle etwa 10 ^{ccm} leicht trüber, seröser Flüssigkeit. Bauchfell, Leber und Milz zeigen feinen Fibrinüberzug. Gefäße des Bauchfells mäßig stark gefüllt. Leber groß, blutreich, Milz bis zum Nabel reichend, fest, derb. Mesenterialdrüsen gut erbsengroß, hämorrhagisch. Gefäße des Dünndarms stark gefüllt. Herzbeutel und Brustfell vorn fest mit Rippenfell verklebt. Brustfell zeigt fibrinöse Auflagerungen. In der Brusthöhle beiderseits etwa 5 ^{ccm} blutig-seröse Flüssigkeit. Herzbeutel verwachsen. Rechte und linke Lunge zeigt mehrere linsengroße, dunkle, wenig lufthaltige, mäßig eingesunkene Partien.



Kurve 6.

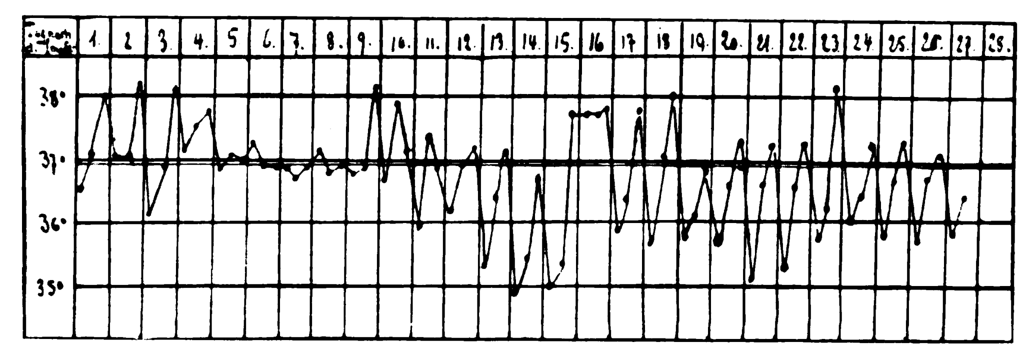
Im Färbepräparat der Organausstriche von Fibrinflocken keine Bakterien. Im dicken Tropfen von Herzblut vereinzelte kurze Stäbchen und Doppelstäbchen, zum Teil segmentiert gefärbt, wie Streptokokken aussehend. Die Kultur des Diplobacillus gelingt in gleicher Weise wie bei Affe I aus Agarausstrich der Mesenterialdrüsen, Leistendrüsen und des Herzblutes. Kulturen von Fibrinflocken blieben steril. In den aus Agarausstrichen auch wieder erst nach mehreren Tagen gewachsenen Kolonien erschienen neben den Stäbchen und Doppelstäbchen ebenfalls wieder die aufgetriebenen Spindel- und Kugelformen. Herz- und Milzbouillon: nach 2×24 Stunden fast klar mit grauweißem Bodensatz. Nach Aufschütteln auf Agar ausgesät zeigen sich nach 2 bis 3 mal 24 Stunden nadelstichgroße, grauglänzende Kolonien. Im hängenden Tropfen, bei Prüfung in differenzierenden Nährböden, sowie mikroskopisch unsern Diplobazillen gleichend.

Affe III.

Männlicher Macacus cynomolgus, Gewicht 2650 ^{grm}, wird subkutan mit $1\,^1/_2\,^{\text{ccm}}$ Blut (verdünnt mit $^1/_2\,^{\text{ccm}}$ physiologischer Kochsalzlösung) und intraperitoneal mit 1 ^{ccm} Blut (verdünnt mit 1 ^{ccm} physiologischer Kochsalzlösung) von Fall 400 geimpft.

Fall 400: Chinese mit geringem Fieber, aber schweren Krankheitserscheinungen. Blut 4 Tage vor dem Exitus letalis entnommen. Am gleichen Tage im Blute und nach dem Tode in den Organen Diplobazillen kulturell nachgewiesen. Äußerlich bot der Affe keine Krankheitserscheinungen wäh-

rend der mehrwöchigen Beobachtung. Die Temperaturmessungen (siehe Kurve 7) ergaben auch keinen deutlichen Anhalt für das Überstehen eines Krankheits-



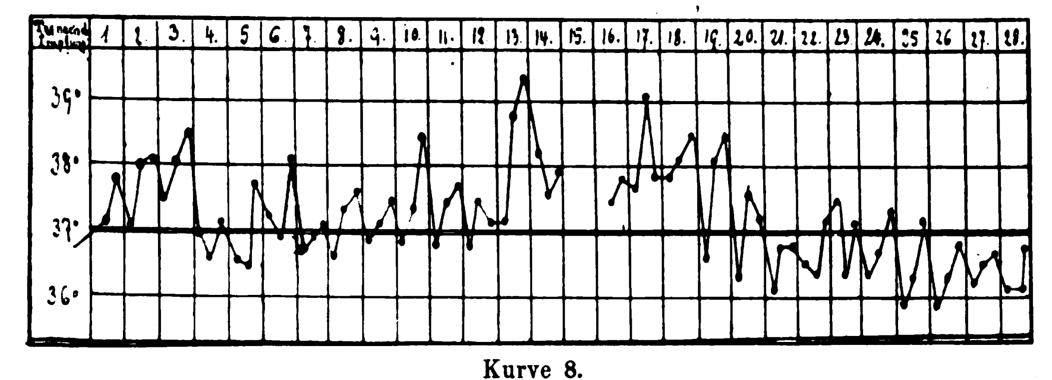
Kurve 7.

zustandes. Auffallend ist jedoch ein Anstieg der Körperwärme am 9. Tage, dem später Untertemperaturen folgen. Überlebt!

Affe IV.

Gleicher Affe wie III. Gewicht 2600 grm, $1^1/_2$ Monate nach der ersten Impfung subkutan geimpft mit 1 ccm Blut und intraperitoneal mit 3 ccm Blut von Fall 517.

Fall 517: Chinese mit klinisch durchaus sicherer, jedoch nicht sehr schwerer Fleckfiebererkrankung. Blutentnahme 4 Tage vor lytischem Temperaturabfall. Kulturelle Untersuchungen des Blutes vom gleichen Tage negativ.



Kurve 8.

Die Temperaturmessungen (siehe Kurve 8) ergaben einen Anstieg der Körperwärme am 13. Tage, dann unregelmäßiges Fieber bis zum 19. Tage.

Abgesehen von geringer Mattigkeit und Freßunlust an den Fiebertagen keine Krankheitserscheinungen. Überlebt!

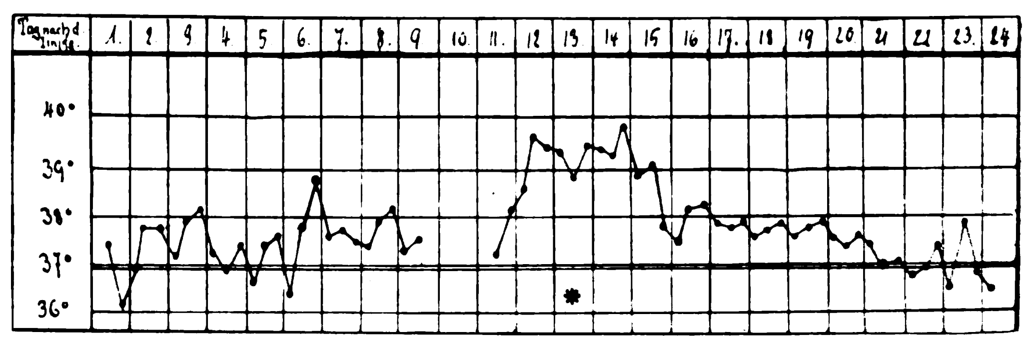
Affe V.

Männlicher Macacus rhesus, Gewicht 2000 grm, wird subkutan mit 2 ccm Blut von Fall 531 geimpft.

Fall 531: Schwer an Fleckfieber erkrankter Europäer (Krankenwärter) mit sehr deutlich ausgesprochenen Krankheitserscheinungen. Blutentnahme



einen Tag vor der Pseudokrisis. Im Blute vom gleichen Tage Diplobazillen kulturell nachgewiesen. Die Temperaturmessungen (siehe Kurve 9) ergaben am 12. Tage nach der Impfung einen Anstieg der Körperwärme, dem 4 Tage hohes Fieber folgt. Am 2. Fiebertage[1] macht das Tier einen sehr kranken



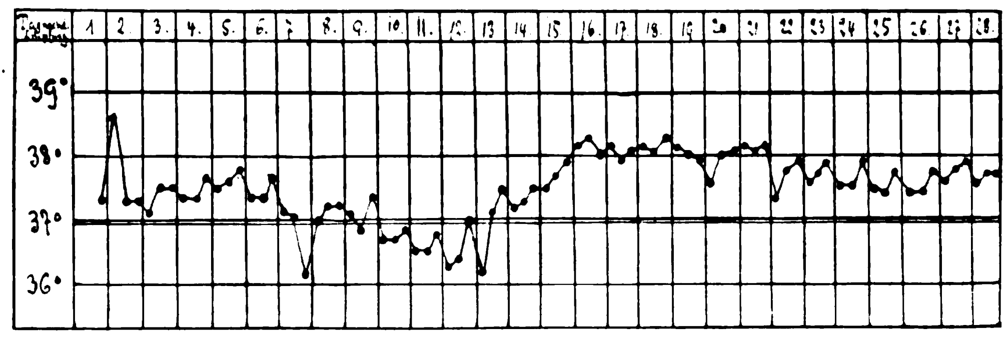
Kurve 9.

Eindruck, fällt zuweilen um und bleibt eine Zeitlang matt auf der Seite liegen, stützt sich an der Wand des Käfigs ab, frißt nicht und ist teilnahmlos. Dieser Zustand dauerte etwa 2 Tage; andere Krankheitserscheinungen traten nicht auf.

Die beiden letzten Impfungen von Affen bilden einen Parallelversuch, bei dem je einem Affen intraperitoneal und subkutan Blut desselben Kranken einverleibt wurde. Es handelt sich um einen fleckfieberkranken Chinesen, dessen Krankheit sehr schwer verlief. Die am gleichen Tage, 5 Tage vor der völligen Entfieberung, angelegte Bouillonkultur hatte infolge Verunreinigung des Nährbodens (Kontrolle nicht steril) kein Ergebnis.

Affe VI.

Männlicher Macacus rhesus, Gewicht 2100 ^{grm}, erhält 2·5 ^{ccm} Blut intraperitoneal (siehe Kurve 10).

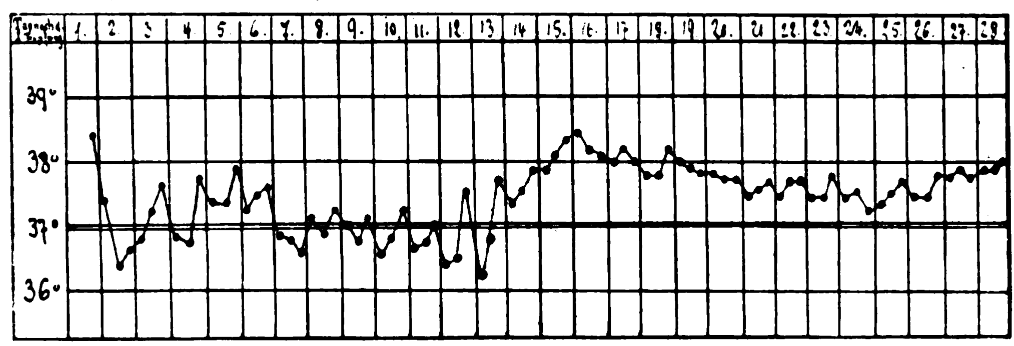


Kurve 10.

[1] Siehe Kurve 9.

Affe VII.

Männlicher Macacus rhesus, Gewicht 1600 grm, erhält 1 ccm Blut subkutan (siehe Kurve 11).



Kurxe 11.

Beide Tiere zeigten während der ganzen Beobachtungszeit keinerlei deutliche Krankheitserscheinungen. Doch beweist die Temperaturkurve, daß sie beide in gleicher Weise nach einer Inkubation von 14 bis 15 Tagen ein Fieberstadium von mäßiger Höhe und von 5 bis 6 tägiger Dauer durchmachten. Auch während der Inkubationszeit, besonders kurz vor der Fieberperiode, zeigen die Kurven einen übereinstimmenden Verlauf. Beide Affen überleben!

Von einer Tötung der Tiere während des Krankheitsverlaufes wurde Abstand genommen, da uns zunächst daran lag, den Verlauf der Krankheit bis zum Ende verfolgen zu können und für zahlreichere Versuche das Tiermaterial nicht ausreichte. Weiteren Tierversuchen machte zudem das frühzeitige Erlöschen der Epidemie ein Ende.

Fassen wir die Ergebnisse der Übertragungsversuche von Fleckfieber auf Affen vermittelst Krankenblutes zusammen, so sehen wir, daß Affen nach einer Inkubation von 10 bis 14 Tagen unter Fiebererscheinungen erkranken, die 5 bis 7 Tage anhalten. Die sichtbaren Krankheitserscheinungen sind gering, insbesondere fehlen Exanthem und Conjunctivitis, dagegen konnten wir starkes Krankheitsgefühl bis zur Benommenheit zeitweise konstatieren. Zwei Tiere gingen im Fieberanstieg nach 10 bis 12-tägiger Inkubation unter den Anzeichen von Entkräftung bzw. Erschöpfung ein. In den letzten Tagen vor dem Tode traten Diarrhöen auf. Bei der Sektion fanden sich bei beiden Tieren starke Füllung der Gefäße an der Impfstelle und nicht unbedeutende Drüsenschwellung hämorrhagischer Art. Im Falle der subkutanen Impfung waren wenig krankhafte Veränderungen an den Körperorganen sonst nachweisbar. Nach der intraperitonealen Impfung fand sich ein fibrinöses Exsudat in Bauch- und Brusthöhle, sowie eine vergrößerte Milz. Die im Blute lebender und den Körperorganen verstorbener Fleckfieberkranken kulturell nachgewiesenen Bakterien konnten



gleichfalls aus Drüsen, Blut und den großen Körperorganen beider Affen auf Agar- und Bouillonkulturen gezüchtet werden. Auffallend erscheint, daß zwei Affen der Krankheit erliegen, die anderen nach verhältnismäßig leichtem Verlauf überleben. Einmal könnte diesen Umstand die Tatsache erklären, daß bei den beiden ersten Impfungen das Material von den ersten Fällen der Epidemie stammte. Erfahrungsgemäß sind ja zu Beginn einer Epidemie die Fälle schwerer und prognostisch ungünstiger, eine Erfahrung, die, wie hier erwähnt sei, sich bei den Fleckfiebererkrankungen in Tsingtau durchaus bestätigte. Dann kommt aber auch in Betracht, daß die beiden erst geimpften Affen schon mehrere Jahre den ihnen gewiß nicht zuträglichen Witterungseinflüssen Tsingtaus ausgesetzt gewesen und infolgedessen sicherlich gesundheitlich geschwächt waren.

Die Versuche zeigen, daß der Affe (Macacus rhesus) nach Infektion mit Blut von Fleckfieberkranken unter Fiebererscheinungen erkrankt, wenn auch das bei ihm auftretende Krankheitsbild äußerlich wenig Verwandtes mit dem menschlichen Typhus exanthematicus hat. Infolgedessen ist der Affe für weitere experimentelle, besonders auch immunisatorische Studien geeignet. Die vorstehend aufgeführten Affen hätten gewiß geeignetes Material für derartige Prüfungen abgegeben, doch konnte die Frage der Immunität nach überstandener Krankheit, sowie manche andere interessante Frage infolge des schnellen Erlöschens der Epidemie nicht weiter verfolgt werden.[1] Für frisches Patientenblut boten unsere bei Fleckfieberkranken gewonnenen Reinkulturen, wie wir später sehen werden, keinen Ersatz, da sie sich schon kurze Zeit nach der Isolierung als nicht oder nur wenig virulent für Tiere erwiesen.

Impfungen mit Blut von Fleckfieberkranken wurden außerdem bei 3 Meerschweinchen, 1 Kaninchen, 1 Taube, 1 Huhn und 1 Ratte ausgeführt.

Das Blut zu diesen Impfungen war in gleicher Weise wenige Tage vor Abfall des Fiebers bei den Kranken entnommen. Von den Meerschweinchen starben die beiden subkutan geimpften am 3. bezw. am 8. Tage nach der Impfung. Das intraperitoneal geimpfte überlebt. Sichtbare Krankheitserscheinungen waren bei keinem aufgetreten.

Die Sektion ergab: Starke Füllung der Gefäße und geringe sulzige Schwellung des Unterhautzellgewebes an der Impfstelle, Vergrößerung der

[1] Mittlerweile haben Nicoll, Conor und Conseil (17 bis 20) in Tunis durch neuere Versuche an Affen u. a. festgestellt, daß ein einmaliges Überstehen der Krankheit nur dann Immunität verleiht, wenn der Krankheitsverlauf ein schwerer war. Die Immunität tritt sehr schnell ein und hält längere Zeit an. 10 bis 12 Tage nach beendeter Fieberperiode hatte das Serum von Menschen und Affen eine ausgesprochene Schutz- und Heilwirkung.



Leistendrüsen und stärkere Füllung der Gefäße in ihrer Umgebung. Die großen Körperorgane zeigten keine sichtbaren krankhaften Veränderungen. Organausstriche im Färbepräparat ohne Bakterienbefund. Kulturelle Untersuchungen der Organe negativ, da Kulturen von einem zarten, influenzabazillenartigen Stäbchen überwuchert wurden, das in dieser Zeit auch bei nichtgeimpften, spontan eingegangenen Meerschweinchen häufig in den Organen gefunden war.

Das mit 1 ccm subkutan geimpfte Kaninchen überlebt und zeigt keine Krankheitserscheinungen, desgleichen die mit 0·5 ccm Blut subkutan geimpfte Ratte und die mit $^1/_4$ ccm Blut subkutan geimpfte Taube. Ein mit $^1/_2$ ccm Blut intraperitoneal geimpftes Huhn verendete 3 Tage nach der Impfung.

Die Gefäße des Unterhautzellgewebes und des Bauchfells sind stark gefüllt, in der Bauchhöhle sulziges, gelbgraues Exsudat. Körperorgane ohne Besonderheiten. Im Ausstrich von Herzblut grampositive, vereinzelt Gramfärbung schlecht annehmende, kurze, meist zu zweien aneinander liegende Kurzstäbchen, mit abgerundeten Enden; Leber und Herz zeigen in Bouillon nach 2 × 24 Stunden Trübung und starke Hämolyse. In Herzbouillonbodensatz im hängenden Tropfen kurze unbewegliche, plumpe Stäbchen und Doppelstäbchen nachgewiesen, deren weitere Züchtung auf Agar nicht gelingt.

Diese wenigen Versuche sind der Vollständigkeit halber aufgeführt, weitere Schlüsse lassen sich bei ihrer geringen Zahl nicht aus ihnen ziehen. Die anfänglich gehäufte Arbeit und das baldige Aufhören der Epidemie brachten es mit sich, daß Übertragungsversuche dieser Art nur vereinzelt angestellt wurden.

In den letzten Jahren sind bei Fleckfieberepidemien in Tunis und Mexiko interessante Übertragungsversuche auf Affen angestellt worden, deren Ergebnisse den unserigen hier kurz gegenübergestellt seien.

Nicoll (1) berichtet über Übertragungsversuche von Fleckfieber auf Affen, Hunde und Ratten, die er zum Teil gemeinsam mit Conor ausführte. Er stellte fest, daß die direkte Übertragung von Menschen auf Macacus cynomolgus und Macacus sinicus bei subkutaner Verimpfung von 1 ccm Blut nicht gelingt. Bei einem Schimpansen konnte er jedoch bei gleichem Vorgehen eine Fleckfiebererkrankung mit Exanthem und 7tägigem Fieber erzielen. Innerhalb der 24tägigen Inkubation war am 14., 15., 16. und 17. Tage schon ein geringer Anstieg der Körperwärme zu konstatieren. Weiter stellte er fest, daß die Übertragung der Erkrankung des Schimpansen auf Macacus sinicus, und von Macacus sinicus weiterhin durch subkutane Verimpfung von 1 ccm Blut auf dieselbe Macacusart gelingt. Die Inkubationszeit beträgt 13 bis 15 Tage, ihr folgt eine Infektion von 8 bis 10tägiger Dauer; das Fieber fällt schnell wieder zur Norm ab. Häufig findet man entweder Exanthem im Gesicht, oder nur Conjunc-



tivitis. Nach Freßunlust, Anzeichen von Schwäche und Teilnahmlosigkeit während der Fiebertage tritt schnell wieder regelrechter Zustand auf. Zwei Macacen starben, einer im Fieberstadium und einer in der Rekonvaleszenz, ohne daß die Sektion etwas Wesentliches ergeben hätte. Macacus cynomolgus, Macacus sinuus und Macacus rhesus, sowie Hund und weiße Ratte waren nicht empfänglich für Blut des kranken Macacus sinicus.

Anderson und Goldberger (12) konnten im Gegensatz dazu das mexikanische Fleckfieber (Tabardillo) direkt vom kranken Menschen auf einen Macacus (20 ccm Blut in drei Injektionen) und Kapuzineraffen (8 ccm Blut in zwei Injektionen) übertragen. Ähnliche Resultate hatten Ricketts und Wilder (3, 4 und 6). Ihre Ergebnisse ähneln sehr den unserigen. Nach intraperitonealer und subkutaner Injektion von 1 ccm Blut sehen sie bei den drei Affen eine Krankheit auftreten, die sich gegen den 6. Tag darin äußert, daß die Tiere zusammengekauert sitzen, wenig fressen und die Haare sträuben. Am 9. und 10. Tage bemerken sie Zunahme der Krankheitserscheinungen; in einem Falle vermehrte Sekretion der Konjunktiven; in zwei Fällen Auftreten von Diarrhöen, Untertemperaturen in einem Fall und Tod am 11. bzw. 12. Tage nach der Impfung bei zwei Tieren. Bei der Sektion fanden sich allgemein vergrößerte Lymphdrüsen; sonst fast nichts Auffälliges. Gemeinsam ist den Fällen besonders auch der plötzliche Fieberanfall und Krankheitsausbruch. Die Diarrhöen werden als „wahrscheinlich nicht von Bedeutung“ bezeichnet. Da wir bei unseren beiden tödlich verlaufenden Fällen in ähnlicher Weise und zu einem gleichen Zeitpunkt der Krankheit diese Diarrhöen auftreten sahen, diese zudem eine nicht seltene Begleiterscheinung des Typhus exanthematicus besonders in schwereren Fällen sind, neigen wir mehr zu der Ansicht, daß es sich doch hierbei um eine spezifische Darmerkrankung handelte. Ebenso, wie bei unseren Tieren, wurden niemals Exanthem und auffallende Conjunctivitis beobachtet.

Ein anderer interessanter Befund der Forscher sei, wenn auch nicht an diese Stelle gehörend, hier kurz erwähnt. Sie stellten fest (5), daß das Virus des Fleckfieberblutes durch Filter zurückgehalten wird, und es gelang ihnen in Färbepräparaten (Giemsafärbung) von Blut, das am 7. bis 12. Krankheitstage entnommen war, Stäbchen nachzuweisen. Sie waren ähnlich den zur Gruppe der hämorrhagischen Septikämie gehörenden und lagen gewöhnlich zu zweien aneinander, meist wurden sie 3 oder 4 Tage vor der Krisis, selten vorher gefunden. Im Gegensatz zu Malariaplasmodien und Trypanosomen waren die Bazillen nur vereinzelt im Blut auffindbar, Protozoen wurden niemals gesehen. Nach Ansicht der Verfasser spricht beim Fleckfieber alles mehr für bakterielle als Protozoen-



krankheit. Besonders der Beginn und klinische Verlauf und die Tatsache, daß eine Attacke Immunität zurückläßt, weisen darauf hin.

Auf Grund der verschiedenen Ergebnisse bei Macacenimpfungen mit Fleckfieberblut in Tunis und Mexiko wird man auf die Frage hingelenkt, ob die beiden Krankheiten identisch sind, eine Frage, über die viel gestritten worden ist. Wir sind mit Ricketts und Wilder (4) der Ansicht, daß Nicolls Versuche keinen sicheren Beweis für die Verschiedenheit der beiden Krankheiten erbringen. Zunächst haben unsere Übertragungen gezeigt, daß Macacus rhesus nach Impfung mit Fleckfieberblut in ähnlicher Weise von einer fieberhaften Erkrankung befallen wird, wie die in Mexiko geimpften Affen. Dann halten wir auch deshalb die Versuche von Nicoll nicht für beweisend, weil das Blut zur Impfung seiner Macacen am 11. und 7. Tage vor der Entfieberung entnommen war, der Schimpanse dagegen mit 2 Tagen vor dem Fieberabfall entnommenem Blut geimpft wurde. Wieviel der Zeitpunkt der Blutentnahme für den Ausfall der kulturellen Untersuchungen zu bedeuten hat, haben unsere Untersuchungen zur Genüge ergeben. Sollte dieser Punkt für die Impfung von Tieren bedeutungslos sein?! Diese Frage bedarf zu ihrer Beantwortung noch spezieller Versuche. In neueren Versuchen ist es mittlerweile Nicoll und Conseil, wie wir nach Abschluß der Arbeit einem Referate (17) entnehmen, gelungen, Typhus exanthematicus auch direkt vom Menschen auf Macacen zu übertragen.

Der Vollständigkeit halber seien hier noch die Versuche von Piquet (13) angeführt, der bei einer Epidemie in Constantine (Algier) im Jahre 1909 Typhus exanthematicus-Blut von Menschen auf Meerschweinchen und Kaninchen in viererlei Art verimpfte, nämlich: durch Stich von Läusen, durch kutane Verreibung und subkutane Einspritzung von Blut und von Eiter. Er erhielt bestimmte, |bei den einzelnen Impfmethoden mehrfach wiederkehrende Krankheitszeichen, so z. B. Paraplegien; von Krankheitszeichen, die dem menschlichen Typhus exanthematicus gleichen, sah er nur einmal Blutungen beiderseits im Psoas eines mit 1 ccm Blut subkutan geimpften Kaninchens, das am 37. Tage nach der Impfung verendete. Im übrigen gaben die Versuche keine eindeutigen Befunde.

Auch Rabinowitsch (8) versuchte durch Impfung mit Blut von Fleckfieberkranken den Typhus exanthematicus auf weiße Mäuse, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen zu übertragen. Bei den Ratten konnte er teilweise ähnliche Erscheinungen feststellen, wie wir, das zusammengekauerte Sitzen und die Empfindlichkeit in den ersten Tagen nach der Impfung. Auch die Diplobazillen konnte er in Milz und Knochenmark in einigen Fällen durch Giemsafärbung nachweisen. Bei den Meerschweinchen sah er in den ersten Tagen Fieber, krankes Aussehen und



Freßunlust; doch erholten sich diese Tiere nach 6 bis 8 Tagen ganz. Von den Kaninchen machte eins in den ersten Tagen einen sehr kranken Eindruck; es starb am 4. Tage. In den Ausstrichpräparaten der Organe zeigten sich die Stäbchen. Die beiden anderen Kaninchen erkrankten anscheinend nur leicht und fieberten nur schwach. Zu berücksichtigen ist, daß er bei seinen Versuchen absichtlich ganz junge, wenig widerstandsfähige Tiere bevorzugte.

Einige weitere Veröffentlichungen, über die wir nur durch Referate unterrichtet sind, kommen zu mehr oder weniger ähnlichen Ergebnissen.

Mc Campbell (14) konnte durch Impfung mit Blut von Fleckfieber-(Tabardillo)Kranken die Erkrankung auf Affen übertragen, die nur Fieber, kein Exanthem zeigten. Bei Filtration durch Chamberlandfilter wurde das Virus zurückgehalten.

Gaviño und Girard (16) halten gleichfalls die „Tabardillo“ genannte Krankheit Mexikos für dem Flecktyphus sehr ähnlich und vielleicht mit ihm identisch. Durch Einspritzung von Krankenblut konnten sie die Erkrankung auf eine niedere Affenart, Ateles vellerosus, übertragen. Die Tiere erkrankten nach 11 bis 14 tägiger Inkubation. Nach einmaligem Überstehen der Krankheit zeigten sich die Tiere unempfänglich für weitere Übertragung. Auf Pferd, Schwein, Hund, Kaninchen, Meerschweinchen, weiße Ratte und Maus ließ sich Tabardillo nicht übertragen.

Zu den Impfungen mit Reinkulturen wurden von uns fast nur ältere, mehrere Tage oder meist länger auf künstlichen Nährböden weitergezüchtete Kulturen verwendet. Über die Wirkung aus dem Körper frisch gezüchteter Kulturen können unsere Mitteilungen somit keinen genügenden Aufschluß geben. In Kürze seien die teils subkutan, teils intraperitoneal ausgeführten Impfversuche an Tieren angeführt.

Weiblicher Macacus rhesus, Gewicht 2300 grm, erhält 0·5 ccm 18 stündige Bouillonkultur 464 subkutan. Kultur 464 seit 14 Tagen isoliert. Das Tier zeigt am 1. bis 2. Tage nach der Impfung einen geringen Temperaturanstieg. Vom 3. bis 6. Tage macht es einen kranken, matten Eindruck, sitzt zusammengekauert in einer Ecke des Käfigs und ist freßunlustig. Vom 7. Tage an regelrechter Befund. Die Temperaturkurve erhebt sich bis zum 12. Tage mehrfach (an 7 Tagen) über 38°, bleibt dann bei weiterer 14 tägiger Beobachtung stets unter 38°. Affe überlebt.

Männlicher Macacus rhesus, Gewicht 2250 grm, erhält 3 ccm 24 stündige Bouillonkultur 530 intraperitoneal. Die Kultur war 24 Stunden vorher frisch aus dem Blute angelegt. Unsere Diplobazillen hatten sich in ihr nachweisen lassen, doch blieb die weitere Züchtung auf festem Nährboden ergebnislos. Äußerlich erkennbare Krankheitserscheinungen traten nicht auf. Die Temperaturmessungen ergaben nach einer Erhöhung der Körperwärme am 2. und 3. Tage einen vom 6. bis 9. Tage dauernden Anstieg



über 38°. Bis zum 16. Tage folgten noch vereinzelte Erhöhungen über 38°, dann blieb bei weiterer 8tägiger Beobachtung die Körperwärme regelrecht.

Von vier geimpften Kaninchen starben drei. Eins verendete nach intravenöser Impfung mit einer Öse 3 Monate lang fortgezüchteter Löffler-Serum-Kultur 389 nach 7 Tagen plötzlich ohne vorherige sichtbare Krankheitszeichen.

Die Körperwärme zeigte keine merkliche Erhöhungen. Körperorgane regelrecht. Leber groß, blutreich. Darmgefäße wenig mehr, als in der Norm, gefüllt. Aus Leber und Milz konnten in Bouillonkulturen (50 ccm Kölbchen) Stäbchen von Form und kulturellem Verhalten unserer Diplobazillen isoliert werden; sie waren vorherrschend grampositiv, zum Teil nahmen sie Gramfärbung schlecht an.

Bemerkenswert ist, daß die Milz-Bouillonkultur (etwa 3 mm langes Stück der schmalen, hellroten Milz in 50 ccm Bouillon) nach 24 und 2 × 24 Stunden noch nicht getrübt erschien, erst nach 3 × 24 Stunden geringe Trübung aufwies und auf schwach alkalisches Löffler-Serum weiterverimpft, das zarte Wachstum ergab, das wir aus der Originalkultur kannten.

Ein zweites Kaninchen wurde intraperitoneal mit 1 ccm 4tägiger Bouillonkultur 526 geimpft.

In der 4 Tage vorher mit Blut angelegten Kultur waren Diplobazillen nach 3 Tagen sehr reichlich nachweisbar, doch hatte die Züchtung auf festen Nährböden kein Ergebnis. Kaninchen verendet ohne vorherige sichtbare Krankheitserscheinungen nach 16 Tagen. Körperorgane ohne Besonderheiten. Gefäße des Mesenteriums stark gefüllt, Mesenterialdrüsen linsengroß, zum Teil hämorrhagisch in sulzig geschwellter Umgebung. Auf Agarausstrich von Herzblut und Leber nach 2 × 24 Stunden reichlich zarte, nadelstichgroße Kolonien, die bei 60facher Vergrößerung den Kolonien unseres Bacteriums gleichen und sich kulturell wie dieses verhalten. In Leber- und Herzbouillon tritt gleichmäßige Trübung und Hämolyse auf, Bakteriennachweis gelingt jedoch nicht.

Ein 3. Kaninchen wird subkutan mit 5 ccm der gleichen Kultur (wie Kaninchen 2) geimpft; verendet ohne vorherige sichtbare Krankheitserscheinungen am 21. Tage. Körperorgane ohne Besonderheiten, kulturelle Untersuchungen negativ.

Ein 4. Kaninchen erhält $^1/_2$ Öse 2tägiger Blutagarkultur aufgeschwemmt in 1 ccm peptonfreier Bouillon intraperitoneal. Kultur war 1 Monat lang fortgezüchtet. Kaninchen überlebt, ohne Krankheitserscheinungen.

Vier Meerschweinchen wurden teils subkutan, teils intraperitoneal, mit 0,5 bzw. 1 ccm Bouillonkultur oder $^1/_2$ Öse Blutagar-Kultur geimpft. Es handelte sich wie bei den Kaninchen um ausgewachsene kräftige Tiere. Krankheitserscheinungen traten nicht auf, alle Tiere überleben. Ein nach 7 Tagen totchloroformiertes Tier zeigt regelrechten Organbefund, die aus den Organen angelegten Kulturen bleiben steril.

Fünf in ähnlicher Weise intraperitoneal bzw. subkutan geimpfte kräftige, ausgewachsene, weiße Ratten überleben; sie zeigen jedoch mit einer Ausnahme vom 3. und 4. Tage an mehrere Tage lang ein krankes Aussehen. Die Abwehrbewegungen bei Berührungen sind schwach, die Empfindlichkeit ersichtlich erhöht. Umgewendet bleiben sie schwer atmend auf dem Rücken liegen. Am 5. Tage nach der Impfung waren diese Erscheinungen am stärksten ausgeprägt. In vier Fällen konnten in dicken Tropfen von Blut, die am 4. und 5. Tage entnommen, mit destillierten Wasser ausgelaugt und mit Giemsalösung gefärbt waren, kurze, plumpe Stäbchen mit abgerundeten Enden nachgewiesen werden, die vielfach zu zweien aneinanderlagen, einige Formen an den Enden mehr spitz als rund verlaufend. Sie wiesen alle die Andeutung eines schmalen, zarten Saumes auf. In 2 Fällen gelang aus dem Rattenblute auf Menschenblut Glyzerin-Agar die Kultur sehr kleiner Kolonien eines unbeweglichen kurzen Diplobacillus, die eine mäßige Aufhellung des Nährbodens verursachten. Die Sektion einer Ratte, 7 Tage nach der Impfung, ergab keine nachweisbaren Krankheitserscheinungen, die kulturelle Untersuchung der Organe blieb negativ.

Späterhin sahen wir bei Verimpfung von je einer Öse Kultur, die mehrere Monate auf künstlichem Nährboden gezüchtet war, bei subkutaner und intraperitonealer Einverleibung weder Fieber noch Krankheitszeichen bei Affen, Meerschweinchen und weißen Ratten auftreten.

Unsere Versuche zeigen, daß das bei Fleckfieberkranken isolierte Bacterium bei subkutaner und intraperitonealer Impfung pathogene Eigenschaften für Kaninchen, Affen und Ratten hat. Ob diese, die bei unseren Versuchen wenn auch deutlich, so doch nur schwach zur Geltung kamen, sich bei Verwendung ganz frisch aus dem Körper isolierter Kulturen stärker äußern, müssen spätere Untersuchungen zeigen. Nach 2 bis 3 monatiger Fortzüchtung ging den Kulturen, wie wir zeigen konnten, die Pathogenität für diese Versuchstiere völlig verloren.

Die mit den bei den russischen Epidemien isolierten Bakterien dort angestellten Tierimpfungen geben kein völlig klares Bild. Predtjetschensky (10) berichtet, daß „große Quantitäten“ (?) des Impfmaterials Mäuse, Kaninchen und Meerschweinchen innerhalb der ersten 24 Stunden töteten, „kleine Quantitäten“ einen krankhaften Zustand hervorriefen, mit ständigem Fieber bei Kaninchen und Meerschweinchen, ohne Lokalerscheinungen oder Eiterung der Impfstelle.

Eingehendere Versuche hat Rabinowitsch (8) mit seinen Reinkulturen an Mäusen, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen angestellt. Ratten und Mäuse gingen bei subkutaner Einspritzung von 0·5 ccm einer Aufschwemmung von 2 dreitägigen Glyzerin-Agar-Kulturen in 8 ccm Bouillon nach



wenigen Stunden ein. Von den, mit 1 ccm dieser Aufschwemmung geimpften drei Meerschweinchen starb eins am 16. Tage ohne positiven Befund. Auffallend war bei den dreien ein krankes Aussehen in den ersten Tagen nach der Impfung und unregelmäßige Temperatur mit täglichen Schwankungen von 0·1 bis 2° während der ganzen Beobachtungszeit Von drei in gleicher Weise geimpften Kaninchen starb eins nach 12 Stunden, eins am 2. Tage nach der Impfung, eins wurde nach 16 tägiger Beobachtung getötet. Daß 12 Stunden bzw. 2 Tage nach der Impfung mit so reichlichem Material die Bakterien im Ausstrich der Milz noch nachweisbar sind, dürfte ebensowenig verwundern, wie der gleiche Befund bei den wenige Stunden nach der Impfung mit reichlichem Material verendeten Ratten. Die Untersuchung des nach 16 tägiger Beobachtung getöteten Kaninchens ergab nichts Auffallendes.

Mit Absicht wurden diese Impfversuche etwas eingehender besprochen. Eine große Beweiskraft können wir ihnen nicht zusprechen.

Zusammenfassung.

1. Bei einer im Frühjahr 1911 in Tsingtau aufgetretenen Häufung von Fleckfieberfällen konnte in etwa 38 Prozent aus Blut und Organen Fleckfieberkranker ein Diplococcobacillus durch Färben oder Kultur nachgewiesen werden, dessen Züchtung in Reinkultur gleichfalls in einer Reihe von Fällen gelang.

2. Der Mikroorganismus, dessen eigentliche Form die eines kurzen, plumpen Diplobacillus ist, zeigt morphologisch mannigfache Abweichung auf verschiedenen Nährmedien.

3. Das Wachstum, die Agaroberflächenkolonien und das biologische Verhalten auf differenzierenden Nährböden ähnelt sehr dem des Streptococcus pyogenes, so daß man versucht sein könnte, anzunehmen, daß es sich um eine Form oder Unterart dieses Mikroorganismus handelt; abweichend ist hauptsächlich das mikroskopische Aussehen, das Wachstum in Milch und das Verhalten gegenüber der Gramfärbung.

4. Es bestehen große Ähnlichkeiten unserer Befunde mit denen, die bei früheren Epidemien an anderen Orten, besonders in den letzten Jahren, erhoben wurden, sowohl hinsichtlich der Art und Weise, wie es gelingt, die Bakterien nachzuweisen, als auch dem morphologischen und kulturellen Verhalten der Bakterien.

5. Am aussichtsreichsten ist die Untersuchung, wenn die Blutentnahme in einem späten Zeitpunkt der Erkrankung (am besten 4 bis 2 Tage vor der Entfieberung) stattfindet; in dieser Zeit hat auch die Untersuchung



des Blutes im gefärbten dicken Tropfen die meiste Aussicht auf Erfolg. Zusatz von Aszitesflüssigkeit und Glyzerin zu festen und flüssigen Nährböden befördert das Wachstum sehr, das auf gewöhnlichen Nährböden oft ausbleibt; das Bacterium verlangt schwach alkalische Reaktion des Nährmediums.

6. Die Prüfung der Agglutination im Patientenserum gaben nur in einzelnen Fällen geringe Werte in Verdünnungen 1:40 bis 1:160.

7. Die Reinkulturen zeigten für Affen, Kaninchen und Ratten bei subkutaner und intraperitonealer Verimpfung geringe pathogene Eigenschaften, die den Kulturen nach längerer Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden verloren gingen.

8. Bei subkutaner und intraperitonealer Verimpfung von Blut der Fleckfieberkranken an Affen (Macacus rhesus und Macacus cynomolgus) tritt bei diesen Tieren nach einer Inkubationszeit von 10 bis 14 Tagen ein 5 bis 7 Tage anhaltendes Fieber auf, teilweise begleitet von starkem Krankheitsgefühl und Benommenheit. Bei zwei im ersten Fieberanstieg 12 bezw. 13 Tage nach der Impfung verendeten Affen konnten die Diplobazillen aus den Körperorganen in Reinkultur gezüchtet werden.

Ob es sich bei unserem Diplococobacillus um den eigentlichen Erreger des Typhus exanthematicus oder nur um einen häufigen sekundären Befund handelt, müssen weitere Untersuchungen an reichhaltigerem Material, als uns zur Verfügung stand, und Prüfung frisch isolierter Kulturen an einer größeren Reihe von Versuchstieren in letzter Linie erweisen. Jedoch lassen der häufige Befund unseres Bacteriums bei Fleckfieberkranken in bestimmten Stadien der Krankheit, das gleiche kulturelle Ergebnis von Untersuchungen der nach Impfung mit Fleckfieberblut nach 12 tägiger Inkubation erkrankten bzw. verendeten Affen, sowie der an anderen Orten unabhängig hiervon gewonnene, fast gleiche Befund die ätiologische Bedeutung des Bacteriums für den Typhus exanthematicus als sehr wahrscheinlich erscheinen und fordern zu eingehenden Nachprüfungen auf.

Die hier mitgeteilten Ergebnisse und Erfahrungen können gewiß dabei nicht unwesentliche Unterstützung bieten und so dazu beitragen, die trotz jahrzehntelanger eifriger Forschung bislang nur unvollkommen beantwortete Frage nach dem Erreger des Fleckfiebers entscheidend zu klären.

Literatur-Verzeichnis.

1. Nicolle, Recherches expérimentales sur le typhus exanthématique. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1910. T. XXIV. Nr. 4.

2. Nicolle, Compte et Conseil, Transmission expérimentale du typhus exanthématique par le pou du corps. *Ebenda,*

3. Ricketts and Wilder, The typhus fever of Mexico (Tabardillo). *A. M. A.* 1910. Vol. LIV. Nr. 6.

4. Dieselben, The transmission of the typhus fever of Mexico (Tabardillo) by means of the louse. *Ebenda.* 1910. Nr. 16.

5. Dieselben, The etiology of the typhus fever (Tabardillo) of Mexico city. *Ebenda.* 1910. Vol. LIV. Nr. 17.

6. Dieselben, Further investigation regarding the etiology of Tabardillo, Mexican typhus fever. *Ebenda.* Vol. LV. Nr. 4.

7. Krompecher, Goldzieher und Augyàn, Protozoonbefunde bei Typhus exanthematicus. *Centralblatt für Bakteriologie.* Orig. Bd. L.

8. Rabinowitsch, Zur Ätiologie des Flecktyphus. *Archiv f. Hyg.* Bd. LXXI.

(Siehe hier die ältere Literatur bis 1903!)

9. Derselbe, Über die Fleckfieberepidemie in Kiew. *Centralblatt f. Bakteriologie.* Orig. Bd. LII.

10. Predtjetschensky, Zur Frage über den Flecktyphuserreger. *Ebenda.* Orig. Bd. LV.

11. Derselbe, Weitere Untersuchungen über den Flecktyphuserreger. *Ebenda.* Orig. Bd. LVIII.

12. Anderson und Goldberger, On the infectivity of tabardillo or mexican typhus for monkeys and studies on its mode of transmission. (*Publ. Health. Rep.* Dec. 24, 1909.) Zitiert nach Ricketts und Wilder (3), sowie ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. IL. Referate. Nr. 22/23.

13. Piquet, Essais d'inoculation du typh. exanth. aux petits animaux de laboratoire. *Bull. d. l. Soc. d. Pathol. exotique.* Paris. Dezember 1909.

14. E. F. Mc Campell, Observations on typhus exanthematicus (tabardillo) in Mexico. (*Journ. of Med. Research.* 1910. Vol. XXIII.) Ref. *Centralbl. f. Bakteriol.* Bd. IL. Referate. Nr. 22/23.

15. Wilson, W. James, The etiology of typhus fever. (*Journ. of Hyg.* 1910. Vol. X. Nr. 2.) Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. IL. Nr. 22/23.

16. A. Gaviño u. J. Girard, El tifo exanthematico experimental en los monos inferiores. (*Tipograf de Estanpillas.* Mexico 1910.) Ref. *Centralbl. f. Bakteriologie.* Bd. IL. Referate. Nr. 22/23.





17. Nicolle, Charles et E. Conseil, Reproduktion expérimentale du typhus exanthém. chez le macaque par inoculation directe du virus humain. (*Compt. rend. de l'Acad. des Sciences.* 1910. T. CL.) Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. IL. Nr. 22/23.

18. Dieselben, Données expérimentales nouvelles sur le typhus exanthém. (*Ebenda.* 1910. T. CLI.) Ref. *ebenda.*

19. Nicolle, Conor et Conseil, Sur quelques propriétés du virus exanthém. (*Ebenda.* 1910. T. CLI.) Ref. *ebenda.*

20. Nicolle, Recherches expér. sur le typh. exanthém. entreprises á l'Institut Pasteur de Tunis pendant l'anée 1910. (*Annales de l'Institut Pasteur.* 1911. T. XXV.) Ref. *ebenda.*

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. V u. VI.)

Die Mikrophotographien wurden unter Benutzung des Apparates des Schlachthoflaboratoriums mit liebenswürdiger Unterstützung des Hrn. Gouvernementstierarztes Eggebrecht angefertigt, dem ich hierfür auch an dieser Stelle ergebensten Dank sage.

Figg. 1 und 2: aufgenommen mit Zeiss AA, Proj. Okul. 4 (Meniscus 2).
Figg. 3 bis 8: aufgenommen mit Zeiss Öl-Immersion $^1/_{12}$, Proj. Okul. 4 (Meniscus 1·5).

Tafel V.

Fig. 1. 7 täg. Aszites-Glyzerin-Agar, Oberflächenkolonien. 1 : 68.

Fig. 2. 10 täg. Aszites-Glyzerin-Agar, Oberflächenkultur. 1 : 68.

Fig. 3. 3 täg. Aszites-Glyzerin-Agar, Oberflächenkultur, Ausstrichpräparat, Karbolfuchsinfärbung. 1 : 1000.

Fig. 4. Wie Fig. 3. 1 : 1000.

Tafel VI.

Fig. 5. 48 stünd. Löffler-Serumkultur (gutes Wachstum), Ausstrichpräparat. Karbolfuchsinfärbung. 1 : 1000.

Fig. 6. 7 täg. Bouillonkultur, wenig schleimiger Bodensatz, Ausstrichpräparat. Karbolfuchsinfärbung. 1 : 1000.

Fig. 7. 4 täg. Oberflächenkultur auf v. Drigalski-Conradischem Agar, Ausstrichpräparat, Karbolfuchsinfärbung. 1 : 1000.

Fig. 8. 48 stünd. Löffler-Serumkultur (kümmerliches Wachstum einer älteren Kultur nach längerer Aufbewahrung bei 37°), Ausstrichpräparat, Karbolfuchsinfärbung. 1 : 1000.



[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Tierärztl. Hochschule zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. P. Frosch.)
(Abteilungsvorsteher: Dr. P. Knuth.)

Gehen die bei Rindern kulturell nachweisbaren Flagellaten aus Trypanosomen hervor?

Von

Paul Behn,
Studierendem der Militär-Veterinär-Akademie.

(Hierzu Taf. VII u. VIII.)

1. Einleitung.

Die Tatsache, daß auch in Europa bei Rindern Trypanosomen spontan vorkommen, ist noch nicht lange bekannt. Der erste Fall dieser Art wurde als gelegentlicher Befund von Weber (1) beschrieben. Weber fand im August 1900 Trypanosomen in Blutausstrichen einer finnländischen Kuh, die an Piroplasmose gelitten hatte und 2 Tage nach der Untersuchung daran zugrunde gegangen war. Genaueres über diesen Befund Webers führt Schaudinn (2) an, dem Weber folgende Mitteilungen darüber machte:

„Es gelang mir, in dem Blute dieser Kuh neben typischen Texasfieberparasiten Parasiten von Trypanosomenform zu finden, wie sie bisher noch nicht bei Texasfieber beobachtet wurden und die auch bedeutend kleiner als die bei der Surrakrankheit beschriebenen Trypanosomen sind. Die weitere Untersuchung muß lehren, ob es sich um eine besondere Entwicklungsform des Texasfieberparasiten handelt oder um eine zufällige Infektion mit einem Parasiten anderer Art.“

Ein weiterer durch die Begleitumstände besonders interessanter Trypanosomenbefund wurde dann nach langer Zwischenzeit im Juli 1908 von Frank (3) erhoben, der in Material von einem in Stein-Wingert,



Kreis Ober-Westerwald, unter Milz- und Rauschbrandsymptomen verendeten Ochsen sehr viele Trypanosomen fand, ohne Milzbrand- oder Rauschbrandbazillen nachweisen zu können. Frank und Frosch (4) waren der Ansicht, das der Tod des betreffenden Ochsen durch die Trypanosomen verursacht worden sei. Frosch (5) schlug für das von Frank gefundene Trypanosoma, daß er auf Grund ätiologischer Ermittelungen als neue Art hinstellte, den Namen Trypanosoma Frank vor. Die genaueren morphologischen und vergleichenden Studien wurden dann von Knuth (6) ausgeführt, der feststellte, daß dies Trypanosoma wegen des spitz zulaufenden Hinterendes mit anderen bei Rindern gefundenen Trypanosomen z. B. Trypanosoma theileri, himalayanum, indicum, muktesari und scheini in eine Linie zu stellen sei und speziell mit dem Trypanosoma theileri die größte Ähnlichkeit habe.

Auch noch an zwei anderen Orten wurden später Rindertrypanosomen gefunden und zwar beide Male bei der Blutuntersuchung nach Impfung mit piroplasmenhaltigem Blute. Hiervon wurde der eine Fall in England und der andere in Deutschland beobachtet:

Am 22. IV. 1910 impfte Stockman (7) in London zu Immunisierungszwecken gegen Piroplasmose 10 Rinder mit Blut einer Kuh, die spontan an Piroplasmose erkrankt war. Bei 6 Rindern traten in der Blutbahn neben Piroplasmen Trypanosomen auf, die sich in einem Falle am 9. Tage nach der Impfung zeigten und 8 Tage lang nachweisbar waren, in den anderen 5 Fällen am 16. Tage zuerst beobachtet wurden und nach 1 bzw. 2 Tagen wieder verschwanden.

Stockman betont die Ähnlichkeit dieser Trypanosomen mit dem Trypanosoma theileri.

Schmitt (8) in Stettin fand ferner Trypanosomen bei einer Kuh, die am 13. VI. 1910 subkutan und intraperitoneal mit einem Blutgemisch geimpft worden war, das von einer an Piroplasmose erkrankten Kuh und einem hiergegen schon immunen Bullen stammte. Die Trypanosomen, die auch in diesem Falle Ähnlichkeit mit dem Trypanosoma theileri aufwiesen, traten am 15. Tage nach der Impfung auf und waren 10 Tage hindurch sichtbar. Es gelang Schmitt nicht, die Bluttrypanosomen auf ein anderes Rind zu übertragen und in Agar und Bouillon zu züchten.

Nach dem mit tödlichem Ausgange verlaufenen Fall von Trypanosomiasis, den Frank 1908 beobachtet hatte, wurden von Knuth und Rauchbaar (9) im Kreise Ober-Westerwald, wo der mit Trypanosomen behaftete Ochse verendet war, Blutuntersuchungen auf Rindertrypanosomen vorgenommen, um eventuell die Ausbreitung dieser Blutparasiten festzustellen und außerdem Material zur eingehenden Untersuchung des



Trypanosoma franki zu gewinnen. Die Blutuntersuchungen blieben jedoch trotz zahlreichen Materials ohne den gewünschten Erfolg.

Im Sommer 1910 brachten dann Knuth und Rauchbaar zum ersten Male in Europa eine Kulturmethode zur Anwendung, durch welche Miyajima, Martini und Crawley Flagellaten hatten nachweisen können.

Im Jahre 1907 hatte Miyajima (10) bei dem Versuch, das Piroplasma parvum in Blutbouillon zu züchten, in mehrtägigen Kulturen viele Flagellaten gefunden, die sich lebhaft bewegten. Er war der Meinung, daß diese Flagellaten aus den Piroplasmen hervorgegangen seien. Die Untersuchungen von Martini (11) und Crawley (12), der die in Blutbouillonkulturen bei Rindern auftretenden Flagellaten mit dem Namen Trypanosoma americanum belegte, zeigten jedoch, daß das Auftreten von Kulturflagellaten — diese Bezeichnung soll im folgenden für die in den Kulturen nachweisbaren Flagellaten gewählt werden — nicht an das Vorhandensein von Piroplasmen gebunden ist, sondern daß es sich wahrscheinlich um einen bisher unbekannten Infektionserreger handelt, der aber weder von Martini noch von Crawley im Blute selbst aufgefunden werden konnte. Der Gedanke lag nahe, daß ein Trypanosoma in Betracht käme, welches ähnlich wie das Trypanosoma lewisi imstande sei, sich in Kulturen stark zu vermehren und nur wegen seiner Seltenheit bislang in Blutpräparaten nicht gefunden worden war.

Diesem Gedanken folgend, legten Knuth, Rauchbaar und Morgenstern (13) im Juni 1910 Bouillonkulturen aus dem Blute von 25 Rindern aus dem Kreise Ober-Westerwald an und konnten nach einigen Tagen feststellen, daß in den Blutbouillonkulturen von 7 Rindern wirklich Flagellaten vorhanden waren und zwar anscheinend von derselben Art, wie sie Miyajima, Martini und Crawley beschrieben hatten. In Blutausstrichen von den 7 Kühen wurden keine Trypanosomen oder andere Gebilde gefunden, die mit den Kulturflagellaten im Zusammenhang stehen konnten.

Die Frage, ob als Ursache der Kulturflagellaten ein Trypanosoma, vielleicht das Trypanosoma franki, in Betracht käme, trat jetzt in den Vordergrund.

Durch das eingehende Studium der jungen Kulturformen, durch Blutuntersuchungen und Versuche, deren Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit zusammengestellt sind, habe ich versucht, zur Lösung dieser Frage einen Beitrag zu liefern.

Vorliegende Arbeit wurde in der Tropenabteilung des Hygienischen Instituts der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin unter der Leitung des Hrn. Abteilungsvorstehers Dr. Knuth angefertigt.



2. Technik und Untersuchungsmethoden.

Herstellung der Blutbouillonkulturen.

Das Blut für die Blutbouillonkulturen wurde den Rindern aus der Vena jugularis folgendermaßen entnommen: Nach Desinfektion der Jugularisgegend mit Alkohol wird die Halsvene durch einen um die untere Halsgegend gelegten und fest angezogenen Strick so zum Schwellen gebracht, daß sie deutlich zu fühlen ist. Nun sticht man mit der sterilen Hohlnadel auf der Vene zunächst durch die Haut und dann mit kurzem Ruck in die mit zwei Fingern fixierte Halsvene. Das im Strahl ausfließende Blut wird in einer kleinen Glasflasche, die 100 bis 150 ccm faßt und einige rauhe Glasperlen enthält, aufgefangen. Die sterilen Blutflaschen sind mit Wattepfropfen versehen. Sie werden so lange geschüttelt, bis weißlichgelbe Flocken die Gerinnung des Fibrins anzeigen, was nach 5 bis 10 Minuten zu geschehen pflegt. Die leicht alkalische Bouillon von der allgemein üblichen Zusammensetzung befindet sich in Reagensröhrchen von ungefähr 1·5 cm Durchmesser. Die Röhrchen sind mit Wattepfropfen versehen und enthalten 7 bis 10 ccm Bouillon.

Das Auffüllen von Blut auf die Bouillonröhrchen wird am besten von zwei Personen besorgt, von denen die eine das Öffnen und Verschließen der Bouillonröhrchen vornimmt, während die andere in jedes Röhrchen ungefähr 2 bis 4 ccm Blut gießt. Selbstverständlich muß bei der Herstellung der Kulturen steril gearbeitet werden.

Art der Färbung und Untersuchung.

Zur Färbung von Ausstrichen wurde fast ausschließlich die neue Giemsa-Lösung verwendet. Von dieser nahm ich gewöhnlich 2 Tropfen auf 3 ccm destillierten Wassers. Die lufttrockenen Präparate wurden nach 3- bis 4 stündiger Fixation in 96 prozent. Alkohol $1^1/_2$ bis 2 Stunden in die angegebene Farblösung gelegt und dann mit spritzendem Wasserstrahl von Farbniederschlägen befreit. Auf diese Weise wurde eine vorzügliche Färbung vor allem der Bluttrypanosomen erzielt; allerdings haben die später zu besprechenden großen breiten Trypanosomenformen durch die Trockenfixation zum Teil etwas gelitten.

Wenn es sich darum handelte, spärliche Bluttrypanosomen nachzuweisen, wurden gefärbte „dicke Tropfen" hergestellt. Dies Verfahren besteht bekanntlich darin, daß man die als Tropfen in dicker Schicht angefertigten und lufttrocken gewordenen Präparate ohne vorherige Fixation sofort in Giemsa-Lösung färbt. Von mir wurden hierzu 2 Tropfen Giemsa-Lösung auf 1 ccm destillierten Wassers genommen. Diese Lösung



ließ ich 7 bis 10 Minuten auf das Präparat einwirken; dann wurde dasselbe leicht in Wasser abgespült. Das Abtrocknen des Präparates mit Fließpapier empfiehlt sich nicht, weil der gefärbte Tropfen fast immer dadurch beschädigt wird. Allerdings gehört einige Übung dazu, die Trypanosomen in diesen Präparaten trotz des veränderten Aussehens zu erkennen. An den so gefärbten Trypanosomen sind meist Randfaden und Geißel nicht zu erkennen. Man sieht nur den schwach blau gefärbten Plasmaleib und in diesem die dunkelrot gefärbten Kerne. An den beiden ungleich großen Kernen im schmalen blauen, meist sichelförmigen Protoplasma erkennt man die Trypanosomen mit Sicherheit.

Die angetrockneten dicken Tropfen kann man auch zunächst einige Zeit in Wasser stellen, bis die rotbraune Farbe einer durchsichtig weißen gewichen ist, dann in Alkohol fixieren und mit Giemsa-Lösung färben. Hierbei erhält man oft gute Bilder.

Zum Auffinden spärlicher Trypanosomen in gefärbten Ausstrichen bedient man sich am besten des Trockensystems des Mikroskops, und zwar vor allem der DD-Linse des Zeissschen Mikroskops. Wegen ihrer Größe konnten die Trypanosomen jedoch auch mit der AA-Linse unter gleichzeitiger Verwendung des Kompensationsokulars 12 aufgefunden werden, was vor allem das Wiederauffinden von Trypanosomen sehr erleichterte.

3. Versuche über die Dauer der Infektion und den eventuellen Überträger.

Über die Verbreitung der in Rinderblutbouillonkulturen auftretenden Flagellaten wurden schon von Knuth und Rauchbaar (14) eingehendere Untersuchungen angestellt. Knuth und Rauchbaar konnten in einem Falle bei 10 von 17 untersuchten Rindern in angelegten Kulturen Kulturflagellaten nachweisen, bei einer weiteren Prüfung von 31 ausgewachsenen Rindern zeigten sich 67·7 Prozent infiziert, von den Jungrindern 14·6 Prozent. Bei fünf untersuchten Kälbern konnte keine Infektion nachgewiesen werden. Seither ist auch in anderen Ländern Europas das Auftreten von Kulturflagellaten in Blutbouillonkulturen, die mit Rinderblut beschickt waren, beobachtet worden. Die allgemeine Verbreitung des Blutparasiten, der sich in Blutbouillonkulturen zu Flagellaten entwickelt, ist somit erwiesen.

Versuch I.

Bei den Untersuchungen, die in der Abteilung für Tropenhygiene bezüglich des Prozentsatzes von Rindern, bei denen sich Kulturflagellaten nachweisen ließen, angestellt wurden, kamen, wie oben erwähnt, auch



5 Kälber zur Untersuchung, die von Knuth und Rauchbaar als negativ befunden wurden. Bei dem hohen Prozentsatz von Infektionen bei ausgewachsenen Rindern war dieser Befund auffällig. Deshalb habe ich zur Klärung der Frage, ob bei Kälbern nur selten oder nie Kulturflagellaten beobachtet werden können, 18 Kälber im Alter von 10 Tagen bis 10 Monaten der Prüfung auf Kulturflagellaten mittels der Blutbouillonmethode unterzogen. Bei keinem dieser Kälber, die alle während der Sommermonate untersucht wurden, konnte ich Kulturflagellaten nachweisen.

Bei Kälbern scheinen demnach Spontaninfektionen mit Kulturflagellaten gar nicht oder sehr selten vorzukommen.

Versuch II.

Rind 10, eins von den sieben Rindern, bei denen Knuth, Rauchbaar und Morgenstern am 25. Juni 1910 Kulturflagellaten nachgewiesen hatten, wurde, um die Dauer der Infektion festzustellen und außerdem Material zur morphologischen Untersuchung der Kulturflagellaten zu gewinnen, häufig der Prüfung mittels der Blutbouillonmethode unterzogen.

In der folgenden Zusammenstellung sind selbstverständlich nur diejenigen Kulturröhrchen in Rechnung gesetzt worden, die keine Verunreinigung aufwiesen. Erfahrungsgemäß zeigen nämlich die von vornherein mit Bakterien oder Pilzkeimen infizierten Röhrchen fast nie Kulturflagellaten; spätere Verunreinigungen haben dagegen oft nur wenig Einfluß auf das Wachstum derselben.

Bei Rind 10 waren:

am	8.	August	von	8	Kulturröhrchen	8	positiv
„	9.	„	„	4	„	4	„
„	13.	„	„	12	„	9	„
„	22.	„	„	3	„	—	„
„	30.	„	„	3	„	1	„
„	31.	„	„	12	„	—	„
„	1.	Septbr.	„	6	„	—	„
„	2.	„	„	6	„	1	„
„	3.	„	„	5	„	—	„
„	4.	„	„	6	„	—	„
„	5.	„	„	6	„	—	„

Alle übrigen Kulturen, die am 6., 7., 8., 9., 11., 13., 19., 21., 22., 25., 28. September und am 1., 4., 20., 28., 29. Oktober angelegt wurden, blieben negativ. Auch während der Wintermonate konnten trotz häufiger



Kulturanlage keine Kulturflagellaten nachgewiesen werden. Im Februar 1911 wurde Rind 10 dann zu Versuchen mit Naganatrypanosomen verwendet. Am 7. Mai konnten bei Rind 10 wieder Kulturflagellaten nachgewiesen werden. Es bestand zu dieser Zeit bei Rind 10 eine Mischinfektion zwischen Naganatrypanosomen und den Ausgangsformen der Kulturflagellaten. Drei mit Blut von Rind 10 geimpfte Mäuse gingen nämlich an Nagana zugrunde.

Am 7. Mai zeigten 6 von 10 Blutbouillonröhrchen Kulturflagellaten. Am 22. Mai waren alle 12 angelegten Blutbouillonröhrchen positiv.

Es ließen sich also bei Rind 10 während des Sommers 1910 Kulturflagellaten nachweisen. Nachdem zuerst immer fast alle angelegten Blutbouillonröhrchen Kulturflagellaten gezeigt hatten, nahm die Zahl der positiven Röhrchen dann im August immer mehr ab, bis vom 2. September ab bis zum 7. Mai des nächsten Jahres in den Blutbouillonkulturen von Rind 10 keine Kulturflagellaten mehr gefunden werden konnten. Vom 7. Mai ab gelang wieder der Nachweis von Kulturflagellaten.

Das allmähliche Verschwinden der Kulturflagellaten bei Rind 10 gab Anlaß zu ausgedehnteren Untersuchungen, die zunächst an Rindern des Hygienischen Instituts, dann aber auch an denen des Rassestalles hiesiger Hochschule vorgenommen wurden und den Zweck hatten, festzustellen, ob bei allen Rindern, bei denen Kulturflagellaten nachgewiesen worden waren, gegen Ende des Sommers zunächst ein Rückgang in der Anzahl der positiven Röhrchen und dann zum Winter das völlige Verschwinden derselben konstatiert werden könnte.

Versuch III.

Die zu diesem Versuche verwendeten 8 Rinder wurden zum Teil gleichzeitig zu Heilversuchen gegen Naganatrypanosomen, zum Teil zu Versuchen mit Tuberkulose verwendet. Das Resultat des Versuches dürfte aber dadurch nicht beeinträchtigt werden, da durch Versuch II bereits festgestellt ist, daß das gleichzeitige Vorhandensein von Naganatrypanosomen das Auftreten von Kulturflagellaten nicht verhindert. Diese 8 Rinder hatten bei einer am 11., bzw. 25. Juli 1910 vorgenommenen Prüfung mit der Blutbouillonmethode sämtlich Kulturflagellaten ergeben. Die Anzahl der positiven Röhrchen war zu dieser Zeit nicht notiert worden, da im Juli eine Abnahme der Infektion noch nicht zu bemerken war; es waren jedoch mindestens zwei Drittel der angelegten Röhrchen positiv gewesen.



Rind 1.

Am	30.	August	von	12	Röhrchen	—	positiv
"	9.	Septbr.	"	4	"	—	"
"	29.	"	"	7	"	—	"
"	20.	Oktober	"	6	"	—	"

Rind 2.

Am	9.	Septbr.	von	4	Röhrchen	—	positiv
"	17.	"	"	6	"	—	"
"	30.	"	"	7	"	—	"
"	20.	Oktober	"	6	"	—	"

Rind 3.

Am	30.	August	von	12	Röhrchen	—	positiv
"	9.	Septbr.	"	4	"	1	"
"	17.	"	"	7	"	1	"
"	29.	"	"	7	"	2	"
"	10.	Oktober	"	6	"	—	"
"	20.	"	"	6	"	—	"

Rind 4.

Am	10.	Septbr.	von	4	Röhrchen	—	positiv
"	29.	"	"	7	"	—	"
"	20.	Oktober	"	5	"	—	"

Rind 6.

Am	10.	Septbr.	von	4	Röhrchen	—	positiv
"	29.	"	"	7	"	—	"
"	20.	Oktober	"	6	"	—	"

Rind 7.

Am	30.	Septbr.	von	7	Röhrchen	1	positiv
"	11.	Oktober	"	5	"	—	"
"	12.	"	"	12	"	2	"
"	20.	"	"	7	"	—	"

Rind BI.

Am	10.	Septbr.	von	7	Röhrchen	2	positiv
"	30.	"	"	6	"	—	"
"	20.	Oktober	"	6	"	—	"

Rind BIV.

Am	10.	Septbr.	von	4	Röhrchen	3	positiv
"	30.	"	"	6	"	1	"
"	20.	Oktober	"	6	"	1	"
"	28.	"	"	10	"	—	"

Sämtliche 8 Rinder wurden nun während der Monate November bis März in jedem Monat einmal auf Kulturflagellaten geprüft, ohne daß es gelungen wäre, solche nachzuweisen. Bei einer am 7. Mai 1911 vorgenommenen Prüfung konnten dann in Blutbouillonkulturen der vier zuletzt angeführten Rinder wiederum Kulturflagellaten gefunden werden.

Dieser Versuch bestätigt das Resultat von Versuch II. Bei allen 8 Rindern ließen sich zum Herbst und während des Winters keine Kulturflagellaten nachweisen. Das Verschwinden der kulturell nachweisbaren Flagellaten bei den Rindern aus den Stallungen des Hygienischen Instituts vom Herbst bis zum Frühling und das Wiederauftreten derselben im Mai bei 4 von 8 Rindern macht es wahrscheinlich, daß das Wiederauftreten der Kulturflagellaten nicht durch Rezidive, sondern durch Neuinfektionen bedingt wurde und daß der Überträger während des Winters gefehlt hatte. Tatsächlich ließen sich in den Stallungen des Hygienischen Instituts während des Winters keine Fliegen oder andere blutsaugende Insekten nachweisen.

Versuch IV.

Das Hauptaugenmerk mußte bei der Suche nach dem Überträger in Anbetracht des hohen Prozentsatzes von Infektionen auf die gewöhnliche Stallfliege, Stomoxys calcitrans, gerichtet werden. Ich konnte mich nun überzeugen, daß diese Fliegenart zum Winter wohl aus den Ställen des Hygienischen Instituts, nicht dagegen aus dem Rassestall hiesiger Hochschule verschwand. Dies liegt daran, daß die Kühe des Rassestalles auf Milchergiebigkeit gefüttert und gehalten werden und deshalb im Winter einen warmen zugfreien Stall haben, während die zu Versuchszwecken gehaltenen Rinder des Hygienischen Instituts nur Erhaltungsration bekommen und sich im Winter in verhältnismäßig kalten Stallungen aufhalten.

Es war unter diesen Umständen äußerst interessant zu erfahren, ob die Kulturflagellaten während des Winters auch bei den Kühen des Rassestalles verschwinden würden. Durch die Liebenswürdigkeit des Hrn. Geh. Regierungsrats Prof. Eggeling, welcher die zu diesem Zwecke nötigen Blutentnahmen von den Rindern des Rassestalles gestattete, wurde mir Gelegenheit geboten, hierüber Untersuchungen anzustellen, die in der folgenden Tabelle kurz zusammengestellt sind (s. S. 380).

Versuch IV ergibt, daß sich bei den Rindern des Rassestalles auch während des Winters Kulturflagellaten nachweisen ließen. Es waren übrigens nicht, wie z. B. bei Versuch III, immer nur einige wenige der angelegten Röhrchen, sondern meist sehr viele derselben positiv. Von der Kuh Marie, die bei den sechs Prüfungen jedesmal positiv war, zeigten meistens alle angelegten Blutbouillonröhrchen Kulturflagellaten.



Blutentnahme am	20. VII.	27. X.	14. XI.	16. I.	4. III.	22. IV.
Lady . . .	+	+				
Antonie . .		+	+	+	—	—
Blume . . .	—	—				
Sarah . . .		+	+	+	—	—
Nanny (alt) .	+	+		+		
Bertha . . .	+	—				
Nanny (neu) .		+		—		
Alma . . .	—	—				
Anna . . .	—	—				
Agathe . . .	+	—				
Marie . . .	+	+	+	+	+	+
Babette . .	—	—				
Olga . . .		+			—	
Juno . . .	+	+	—	+	+	
Laura . . .	+	+			+	+
Auguste . .	+	—				
Hulda . . .	—	—				
Luise . . .	+	—				
Adelheid . .	—	—				
Louis . . .	+	—				

Bezüglich des Auftretens der Kulturflagellaten besteht demnach zwischen den Rindern des Hygienischen Instituts und denen des Rassestalles ein scharfer Gegensatz, der leicht durch das Vorhandensein von Fliegen im Rassestall während des Winters erklärt werden kann.

Auch das Resultat dieses Versuchs spricht dafür, daß es sich bei den vier Rindern des Hygienischen Instituts, die erst im Frühling wieder Kulturflagellaten ergaben, nicht um Rezidive, sondern um Neuinfektionen handelte.

Zusammenfassung.

Aus den oben angeführten vier Versuchen geht folgendes hervor:

1. Da sich bei keinem von 18 Kälbern in Blutbouillonkulturen Flagellaten nachweisen ließen, muß auf eine hohe Resistenz der Kälber gegen Spontaninfektionen geschlossen werden.

2. Die Kulturflagellaten lassen sich bei manchen Rindern oft sehr lange Zeit hindurch ununterbrochen nachweisen (vgl. Kuh **Marie** aus Versuch IV).

3. Das Verschwinden der Infektionen bei Rindern, die in einem fliegenfreien Stalle lebten, und ihr Wiederauftreten zu einer Zeit, wo die Stechfliegen wieder vorhanden waren, ferner das Gelingen des Nachweises von Kulturflagellaten auch während des Winters bei Rindern, die in einem fliegenhaltigen Stalle lebten, macht es wahrscheinlich, daß in der



vorhandenen Stechfliegenart, es handelt sich um Stomoxys calcitrans, der Überträger zu suchen ist. Der Beweis für diese Annahme ist allerdings nur durch Übertragungsversuche mittels Fliegen und durch Fliegenuntersuchungen zu erbringen.

4. Untersuchung von Blutbouillonkulturen.

Die günstigste Zeit zum Nachweis von Kulturflagellaten in Blutbouillonkulturen liegt zwischen dem 6. und 10. Kulturtage. Allerdings gelingt der Nachweis z. B. auch schon am 4. und 5. Tage nach Anlage der Kultur, aber erst in der angegebenen Zeit kommt es meist zu einer so starken Vermehrung, daß die Flagellaten mit Leichtigkeit nachgewiesen werden können. Die Kulturen erst nach dem 10. Tage zu untersuchen ist deshalb nicht ratsam, weil die eventuell in die Kulturen gelangten Bakterien in dieser Zeit die Flagellaten schon überwuchert und zum Absterben gebracht haben können. Wie schon Crawley betont, sind Kulturen, die Flagellaten enthalten, oft schon makroskopisch daran zu erkennen, daß sich auf der Oberfläche der abgesetzten Blutzellen kleine umschriebene, punktförmige Stellen von weißlich-gelber Farbe bilden, die vom 8. bis 10. Tage an allmählich zu einer, die ganze Oberfläche überziehenden, dünnen, gelblichen Haut zusammenfließen.

Zur Untersuchung der Kulturen bedient man sich einer Platinöse an möglichst langem Platindraht. Mit dieser geht man unter aseptischen Kautelen in das zu untersuchende Röhrchen bis zu den Blutzellen hinein und sucht von der Schicht, die auf den roten Blutköperchen lagert und ein feines, aus weißen Blutkörperchen bestehendes Häutchen bildet, etwas in die Öse zu bekommen. Das erhaltene Tröpfchen untersucht man am einfachsten sofort unter dem Deckglas. Mit der DD-Linse des Zeissschen Mikroskops sind die Kulturflagellaten wegen der andauernden Bewegung, in der sie sich befinden, leicht auffindbar. Es empfiehlt sich, die Ränder der Klumpen von weißen Blutkörperchen genau zu mustern, da man sie hier am häufigsten findet.

5. Morphologisches über die Kulturflagellaten.

Für meine Untersuchungen kamen vor allem die Formen in Frage, die in den ersten Kulturtagen auftreten, weil durch sie vielleicht ein Rückschluß auf die ursprünglich im Blute befindlichen Formen gemacht werden konnte. Dieser Untersuchung stellten sich aber gewisse Schwierigkeiten in den Weg. Eine solche lag zunächst in dem Umstand,



daß während des Winters, wo ich diese Untersuchungen hauptsächlich vornahm, der Grad der Infektion meistens kein sehr hoher war, so daß ich immer nur sehr wenige Entwicklungsformen zu Gesicht bekam. Ich benutzte während des Winters Blut von Kühen des oben erwähnten Rassestalles. Eine weitere Schwierigkeit lag darin, daß sich die Blutkörperchen in den jungen Kulturen erst sehr langsam, d. h. in 2 bis 3 Tagen, einigermaßen fest absetzen. Erst am 4. Tage haben sich die weißen Blutkörperchen meist zu einem Häutchen zusammengeschlossen, das man mit der Platinöse fassen kann. Um diesen Übelstand zu beseitigen, zentrifugierte ich den Inhalt der zu untersuchenden Röhrchen in den ersten 3 Kulturtagen und erzielte damit gute Resultate. Der Inhalt der Kulturröhrchen wurde meistens 20 bis 25 Minuten bei 1400 bis 1500 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert. Dann ließ sich die Schicht der weißen Blutkörperchen sehr gut untersuchen. Durch Zentrifugation in Abständen von einer oder mehreren Stunden versuchte ich einen Überblick über die entstehenden Formen zu bekommen. Die Versuche ergaben, daß die Kulturflagellaten das Zentrifugieren sehr gut aushielten, was auch ebenso von den weiter unten beschriebenen Trypanosomen behauptet werden kann. Versuche, die Flagellaten im sterilen, hängenden Tropfen zum Auftreten zu bringen, schlugen stets fehl, obgleich sie sehr oft vorgenommen wurden.

Die Untersuchung der in den ersten Tagen auftretenden Kulturformen wird ferner dadurch erschwert, daß die weißen Blutkörperchen in dieser Zeit ganz eigenartige Veränderungen zeigen, die wohl auf Degeneration beruhen und zu Verwechselungen mit Parasiten Anlaß geben können. Einige der Abbildungen, die Miyajima (10) seiner Arbeit: „On the Cultivation of a bovine Piroplasma“ beigegeben hat, möchte ich für solche Verwechselungen halten.

In einer vorläufigen Mitteilung über „Präflagellate Entwicklungstadien der in deutschen Rindern kulturell nachweisbaren Trypanosomen“ (15) habe ich bereits darauf hingewiesen, daß mir bei 1- bis 2 tägigen Kulturen Formen aufgefallen waren, die ein endoleukozytäres Stadium darzustellen schienen. Wegen der Seltenheit dieser Formen habe ich mich damals noch nicht bestimmter äußern können. Solche in weißen Blutkörperchen enthaltenen Formen habe ich dann in ziemlich großer Menge gefunden, als ich Ausstriche untersuchte, die aus einer 5 tägigen Kultur stammten, bei der mir die ungewöhnliche Menge der schon am 5. Tage vorhandenen Kulturformen aufgefallen war. Leider waren von den stark parasitenhaltigen Röhrchen in den ersten Tagen keine Ausstriche zum Zwecke der Färbung gemacht worden. Auch eine neue Kulturanlage mit Blut derselben Kuh konnte nicht vorgenommen werden, weil sie inzwischen geschlachtet worden



war. Die endoleukozytären Formen befanden sich alle in polymorphkernigen, neutrophilen Leukozyten (Figg. 1 bis 3, Taf. VII). In jedem der oben erwähnten Ausstriche aus 5 tägiger Kultur waren ungefähr 12 bis 15 solcher Formen zu finden. Die in den polymorphkernigen Leukozyten zu beobachtenden Formen heben sich sehr gut von der gelblichen Plasmafärbung der Leukozyten ab. Sie sind mehr oder weniger tief blau gefärbt und enthalten meist Kern und Blepharoplasten, zuweilen aber nur einen von den beiden. Manchmal ist der Hauptkern zu Chromatinkörnern zerfallen. Meistens sind einige Granula im Protoplasma eingelagert. Die Kleinheit der Formen, ihre scharfe Abgrenzung und Färbung und schließlich die Anzahl der beobachteten Formen machen es sehr wahrscheinlich, daß es sich nicht um phagozytierte Formen, sondern um Entwicklungsstadien handelt. Neben Formen, die ziemlich klein und oft nur mit einem Kern ausgestattet sind, finden sich größere, wobei dann das Protoplasma der Neutrophilen gelber gefärbt ist und zur Vakuolenbildung neigt. Eine Geißel wurde bei diesen endoleukozytären Formen nie gefunden. Manchmal lagern sich sowohl Hauptkern und Blepharoplast als auch das Protoplasma am Rande ab, wodurch in der Mitte des Parasiten eine helle Stelle entsteht. Hierdurch kann eine Reifenform zustandekommen, wie sie in Fig. 3, Taf. VII abgebildet ist (vgl. auch Fig. 8, Taf. VII).

Die Frage, ob die späteren Flagellaten alle zuvor ein endoleukozytäres Stadium durchmachen müssen, habe ich nicht entscheiden können. Auffällig ist, daß endoleukozytäre Formen im allgemeinen sehr selten gefunden werden und nur einmal, und zwar am 5. Kulturtage, in größerer Anzahl beobachtet werden konnten.

Im Laufe des 3. Tages, frühestens und selten schon während des 2. Tages, wurden die ersten freien und geißellosen Formen beobachtet. Diese haben meist birnenförmige Gestalt, ihr Kern nimmt ziemlich starke Chromatinfärbung an und ihr Protoplasma ist tief blau gefärbt. Die Größe dieser Formen entspricht der der roten Blutkörperchen. Die ersten geißeltragenden Formen finden sich meistens am 3. Tage, im frühesten Falle nach meiner Beobachtung nach 42 Stunden. Die ersten Flagellatenformen sind immer sehr schmal und haben typische Crithidienform. Von dem meist in der vorderen Hälfte des Plasmaleibes und zwar dicht vor dem Hauptkern liegenden Blepharoplasten entspringt eine kurze undulierende Membran, die in eine am Ende meist mit einem Knöpfchen versehene Geißel ausläuft. Die zunächst auftretenden schmalen Formen scheinen aus den geißellosen, abgerundeten dadurch zu entstehen, daß sich in der Mitte des Plasmakörpers eine Vakuole bildet, wodurch der Kern an die Wand gedrückt wird. Vom Blepharoplasten aus, der dem Hauptkern immer sehr nahe liegt, entwickelt sich dann der Randfaden, der sich zunächst nur schwach rot



färbt. Schließlich wird die Geißel frei, und es erfolgt auf der dem Hauptkern gegenüberliegenden Seite die schräge Durchteilung. Hierauf strecken sich die Flagellaten erst allmählich. Von den Reifenformen habe ich verschiedene gesehen — eine solche ist in Fig. 8, Taf. VII abgebildet.

Die birnenförmigen kleinen Formen können auch eine Geißel bilden, ohne die Gestalt zu verändern (Fig. 7, Taf. VII). Das Hinterende bleibt bei diesen Formen abgerundet, eine undulierende Membran fehlt im Gegensatz zu den oben beschriebenen schmalen Formen mit spitzem Hinterende und kurzer undulierender Membran.

Während die langen schmalen Formen sich durch Längsteilung vermehren, teilen sich die birnenförmigen Flagellaten meist in vier Teile, die kleeblattartig zusammenhängen. Die hierdurch entstandenen neuen Individuen treten dann in eine Vielteilung ein. Hierbei entstehen in einem Plasmakörper zunächst zwei Blepharoplasten und zwei Hauptkerne, dann bei gleichzeitiger Ausdehnung des Plasmakörpers schließlich hunderte von Hauptkernen und Blepharoplasten, die dicht nebeneinander liegen. In diesem Stadium sieht man im gefärbten Präparat meist nur einen bläulich-violetten Fleck, in dem sehr viele kleine Punkte erkennbar sind. Diese Punkte sind die Blepharoplasten, die den Kernfarbstoff an sich gerissen haben. Hierauf wachsen die Geißeln aus den Blepharoplasten hervor (Fig. 10, Taf. VII). Erst jetzt kommt es zu einer allmählichen Scheidung in Einzelformen, was sich zunächst durch strichförmige helle Streifen im Protoplasma anzeigt. Die einzelnen Flagellaten haben jetzt meist eine wurstförmige, etwas gekrümmte Gestalt mit abgerundetem Hinterende (Fig. 11, Taf. VII). Durch allmähliche Streckung kommt das spitze Hinterende zustande. Die Flagellaten liegen vor der Trennung meistens zu Knäueln zusammen, oft zeigen sie auch eine Gruppierung, indem z. B. die Kerne alle nebeneinanderliegen und das Hinterende der Flagellaten noch verwachsen ist, wodurch eine Rosettenform zustandekommt. Die Bewegung der Geißeln ist in diesem Stadium eine sehr lebhafte. Die vollkommene Trennung ist am 10. Tage meistens beendet. Bemerkenswert ist noch, daß in der Mitte großer Haufen von Kulturflagellaten fast immer einige runde Formen zu finden sind, die viel Protoplasma haben und sich durch viel hellere Färbung desselben auszeichnen. Auch sie besitzen Geißeln, die aber, ohne daß eine undulierende Membran vorhanden wäre, frei nach außen ragen. Zur Zeit der Trennung voneinander zeigen die Kulturflagellaten im allgemeinen einen typischen Bau, sowohl was Größe als auch Gestalt anbelangt (Fig. 14, Taf. VII). Die beiden Kerne liegen dicht nebeneinander, und zwar der Blepharoplast vor dem Hauptkern, beide in der vorderen Hälfte des Plasmaleibes. Der Hauptkern ist fast immer rund und färbt sich gleichmäßig rot, der Blepharoplast ist

ziemlich groß und oft rechteckig geformt, er färbt sich sehr stark und ist quer gestellt, vor ihm ist häufig eine Vakuole gelegen. Die vom Blepharoplasten ausgehende kurze undulierende Membran läuft in eine Geißel aus, die an der Spitze gewöhnlich geknöpft ist. Das Hinterende ist zugespitzt. Die Länge dieser Formen beträgt ungefähr 30 bis 45 μ, die Breite $1^1/_2$ bis 3 μ, die Länge der Geißel $^1/_3$ bis $^1/_4$ der Gesamtlänge.

Die Bewegung dieser Flagellaten ist entweder eine Bewegung am Ort, indem die Geißel hin und her schlägt und der Plasmaleib nur in schwankende Bewegungen versetzt wird, oder eine Vorwärtsbewegung mit der Geißel voran. Der Plasmaleib ist fast immer ganz gerade und unbeweglich. Deshalb findet man in gefärbten Präparaten sehr selten solche Flagellaten, deren Leib geschlängelt ist. Die Geißelbewegung geschieht in Form einer fortlaufenden Welle. Diese Flagellaten vermehren sich durch Längsteilung (Fig. 9, Taf. VII). Sie beginnt mit der Teilung des Blepharoplasten und der Bildung einer neuen Geißel, worauf der Hauptkern sich teilt und die Durchschnürung des Plasmaleibes von der Geißel aus erfolgt. Die in Fig. 9, Taf. VII abgebildete Teilungsform zeigt nicht die gewöhnliche Durchschnürung des Hauptkerns, es treten hier vielmehr drei aus Chromatin bestehende Spiralen auf, an deren Ende je ein Blepharoplast liegt, der die Funktion eines Centrosomas übernommen zu haben scheint. Zuweilen sieht man Individuen, die mit dem Hinterende zusammenhängen, während die Geißeln in entgegengesetzte Richtungen zeigen. Die Trennung dieser Formen (Fig. 15, Taf. VII) erfolgt durch schräge Querteilung in der Mitte, sodaß beide Individuen ein spitzes Hinterende bekommen.

Der einheitliche Typus der Flagellaten verliert sich dann schon innerhalb der nächsten Tage. Neben langen, dünnen Flagellaten mit viel Kernsubstanz treten breite Formen mit hellem Protoplasma und verhältnismäßig kurzer Geißel auf. Häufig werden dann ferner Formen beobachtet, bei denen beide Kerne in der vorderen Spitze des Plasmaleibes liegen, wodurch eine keulenförmige Anschwellung dieser Stelle bedingt wird. Gerade diese Formen haben oft mehrere Kerne und dementsprechend auch Geißeln, so daß man Formen beobachten kann, bei denen aus der meist vollkommen mit Kernen angefüllten Verdickung am Vorderende 3 oder 4 Geißeln hervorragen, die sich sehr lebhaft bewegen und ziemlich lang zu sein pflegen. Auch runde Formen treten auf, die meistens eine sehr lange, freie Geißel besitzen. In sehr alten Kulturen findet man auch ganz kleine Formen, die sich äußerst lebhaft bewegen (Figg. 18 und 19, Taf. VII), daneben Formen, die ziemlich schmal sind und Trypanosomen gleichen, bei denen es also zu einer Umlagerung der beiden Kerne gekommen ist, so daß der Hauptkern vor dem Blepharoplasten



liegt (Fig. 23, Taf. VII). Ausnahmsweise kann man übrigens auch in jungen Kulturen einmal Flagellaten von Trypanosomenform finden, bei denen der Blepharoplast dann fast immer dicht hinter dem Hauptkern liegt. Ist eine Kultur stark mit Bakterien verunreinigt oder mehrere Monate alt, so beobachtet man schließlich nur noch runde Formen mit schwacher Beweglichkeit, bei denen es zur Auflösung der Kerne und Abstoßung der Geißel kommt. Die Formen sehen hellrot aus und haben etwa den doppelten Durchmesser eines roten Blutkörperchens. Eine Kapsel habe ich bei diesen schließlich ganz homogen gewordenen runden Formen nie nachweisen können. Bei einigen Kulturröhrchen konnte ich nach ungefähr 4 Wochen eine erneute rapide Vermehrung der Flagellaten beobachten, die zu dieser Zeit eine sehr lebhafte Bewegung zeigten; dabei verschärften sich die Gegensätze der Formen. Neben ganz dünnen, äußerst beweglichen Flagellaten mit viel Kernsubstanz, die an der Stelle, wo der Kern liegt, knotig verdickt erscheinen, sieht man dann vor allem geblähte, runde Formen mit heller Protoplasmafärbung und kleinem hellem Kern, dessen Chromatinsubstanz oft ringförmig angeordnet ist. Um die großen, schwerer beweglichen sammeln sich in der Regel schmale Formen an, wobei die nach innen gerichteten Geißeln oft ein unentwirrbares Knäuel bilden. Fast alle Kulturflagellaten, vor allem vom 10. Kulturtage an, zeigen mehr oder weniger Granula im Protoplasma. Es kommen Formen vor, die ca. 80 μ lang sind, daneben Formen, die nur eine Länge von 10 μ haben.

Während für die zu morphologischen oder vergleichenden Zwecken angestellten Versuche zur Anfertigung der Blutbouillonkulturen nur Rindfleischbouillon verwendet wurde, wurde andererseits versucht, diese Bouillon durch solche zu ersetzen, die aus Schaf- oder Hirschfleisch, ferner durch solche, die aus Liebigs Fleischextrakt hergestellt worden war. Mit diesen Bouillonarten wurden dieselben positiven Resultate erzielt wie mit Rindfleischbouillon. Auch in 10 prozentiger Peptonlösung konnte das Auftreten von Kulturflagellaten beobachtet werden. Noch nach 5 Monaten fand ich in solchen mit Peptonlösung hergestellten Kulturen äußerst lebhaft bewegliche Flagellaten.

Dagegen entstanden die Kulturflagellaten nie in defibriniertem, längere Zeit aufbewahrtem Blute und in Röhrchen, bei denen die Bouillon durch destilliertes Wasser oder durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt worden war.

Bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gedeihen die Kulturflagellaten am besten. In Kulturen, die von Anfang an einer Temperatur von 37·2° ausgesetzt waren, habe ich nie Kulturflagellaten gefunden. Auch Kulturen, die bei 0° gehalten wurden, gingen nicht an.



Wo die genaue Temperaturgrenze sowohl nach oben als auch unten hin liegt, habe ich nicht geprüft. Die Einwirkung von Sonnenstrahlen hemmt die Entstehung der Flagellaten nicht.

6. Übertragungsversuche.

Analog den Versuchen von Miyajima (10) und Martini (11) habe auch ich durch Injektion von Blut oder Kulturen bei nichtinfizierten Rindern Infektionen zu erzielen versucht. Miyajima war es gelungen, von drei mit Blutbouillonkulturen geimpften Kälbern bei zweien, in einem Falle nach 8 Tagen, in Blutbouillonkulturen wiederum Kulturflagellaten nachweisen zu können. Auch Martini berichtet von ähnlichen Erfolgen nach Verimpfung von Kulturen auf Kälber. Nach Injektion von Blut solcher Rinder, in deren Blutbouillonkulturen Flagellaten nachgewiesen werden konnten, sah Martini jedoch weder in Kulturen noch im Blut der geimpften Kälber irgend welche Formen auftreten, die mit den Flagellaten in Zusammenhang gebracht werden konnten.

Übertragungsversuch I.[1]

Während der Zeit, in der Rind 10 Kulturflagellaten aufwies, wurde ein Übertragungsversuch mit dem Blut dieses Rindes gemacht. Nachdem eine für diesen Zweck angekaufte, ca. $1^1/_2$ Jahre alte Färse schon bei der Vorprüfung Kulturflagellaten gezeigt hatte und deshalb nicht verwendet werden konnte, wurde zu diesem Versuch ein Kalb (Nr. 11) gewählt, das erst 10 Tage alt war. Trotzdem ich bei Kälbern niemals Spontaninfektionen mit Kulturflagellaten beobachten konnte (vgl. Versuch I), wählte ich zu den Übertragungsversuchen in der Folge Kälber, und zwar angesichts der positiven Resultate, die Miyajima und Martini bei der Überimpfung von Kulturen auf Kälber erzielt hatten. Dem Kalbe (Nr. 11) wurden am 9. August je 5 ^{ccm} Blut von Rind 10 subkutan und intraperitoneal injiziert, nachdem sowohl dem Kalbe, als auch dem Rinde Blut zum Anlegen von Blutbouillonröhrchen entnommen worden war. In den mit Blut von Rind 10 angefertigten Kulturen entwickelten sich Flagellaten, in denen von Kalb 11 nicht.

Untersuchungen des Kalbes, die vom Tage der Injektion an sowohl an hängenden Tropfen und Blutausstrichen als auch an Blutbouillonkulturen jeden 2. Tag vorgenommen wurden, fielen negativ aus.

Am 13. September wurde die Untersuchung abgebrochen.

[1] Die Übertragungsversuche I und II führte ich zusammen mit Herrn Oberveterinär a. D. Rauchbaar aus.



Es war somit nicht gelungen, ein Kalb durch Blut eines Rindes, bei dem sich in Blutbouillonkulturen Flagellaten entwickelten, zu infizieren.

Übertragungsversuch II.

Dem 10 Tage alten Kalb 12 wurde am 22. August der Inhalt von drei positiven 13tägigen Blutbouillonröhrchen subkutan injiziert.

Die fast täglich vorgenommene Untersuchung von hängenden Tropfen, Blutausstrichen und Blutbouillonröhrchen blieb negativ.

Der Versuch wurde am 13. September abgebrochen.

Übertragungsversuch III.

Vorher erwähntes Kalb 11, das am 9. August ohne Erfolg mit Blut von Rind 10 geimpft worden war, wurde in der Erwägung, daß eine 13tägige Kultur, wie sie bei Kalb 12 (s. Übertragungsversuch II) verwendet worden war, vielleicht infolge ihres Alters nicht mehr infektionstüchtig gewesen sei, am 19. September mit 5tägiger Kultur subkutan geimpft. Die Untersuchung, die sich neben Blutausstrichen vor allem auf sehr viele Blutbouillonröhrchen, die täglich angelegt wurden, erstreckte, fiel negativ aus und wurde daher am 5. November abgebrochen.

Zwei Versuche also, Kälber mit Kulturen zu infizieren, in denen Flagellaten vorhanden waren, schlugen fehl.

Bevor ich die weiteren Übertragungsversuche anführe, muß ich den Fund eines Trypanosomas im Blute eines Rindes erwähnen.

Seit Anfang August 1910 war ich bemüht, im Blute von Rindern, bei denen in Blutbouillonkulturen Flagellaten auftraten, Formen zu finden, aus denen die Kulturflagellaten hervorgehen könnten. Ich untersuchte zu diesem Zwecke sehr viele nach Giemsa gefärbte Blutausstriche solcher Rinder, ohne zu einem positiven Ergebnis zu kommen. Da fand ich im Oktober 1910 in einem von 20 Blutausstrichen, die am 8. August aus dem Ohrvenenblut von Rind 10 angefertigt worden waren, ein einziges und zwar auffällig großes und breites Trypanosoma, ohne auch bei genauester Untersuchung weitere Trypanosomen auffinden zu können. Der Blutausstrich war zu einer Zeit von Rind 10 angefertigt worden, wo in Blutbouillonkulturen dieses Rindes Flagellaten aufgetreten waren (s. Versuch II auf S. 376). In einer vorläufigen Mitteilung über diesen Fund hat Verfasser (16) das bei Rind 10 (in der Mitteilung „Kuh Nachtigall“ genannt) gefundene Trypanosoma folgendermaßen beschrieben:

„Der sehr breite, plumpe Körper des Trypanosomas befindet sich in gekrümmter Stellung und weist folgende Maße auf:



Vom Hinterende bis zur Mitte des Blepharoplasten . . .	13 μ
Von der Mitte des Blepharoplasten bis zum hinteren Rand des Kerns	4 „
Kern in der Längsrichtung des Körpers	2 „
Vom vorderen Rand des Kerns bis zum Vorderende des Körpers	24 „
Länge des Protoplasmakörpers	43 „
Länge der freien Geißel	12 „
Gesamtlänge des Trypanosomas	55 „
Größte Breite	12 „

Das Protoplasma des Trypanosomas ist bläulich gefärbt und zeigt neben hellen Stellen, an denen sich wahrscheinlich Vakuolen befinden, eine starke Granulation. Die Granula sind fast sämtlich gleich groß und haben eine rötlich- bis bläulich-violette Färbung. Vor dem Kern befinden sich mehr rötlich-violette Granula, hinter demselben mehr bläulich-violette. Um den Hauptkern herum ist die Granulation weniger stark, auch ist hier das Protoplasma etwas heller gefärbt. Auch in dem hinter dem Kern gelegenen Protoplasma fällt eine solche Stelle auf, in deren Mitte der schwarz-violett gefärbte Blepharoplast liegt. Der Hauptkern ist quer gestellt und blaßrot gefärbt. In der Querrichtung füllt er die ganze Breite des Protoplasmaleibes aus, während er, in der Längsrichtung des Körpers gemessen, einen sehr geringen Durchmesser hat. Der Blepharoplast liegt hinter dem Hauptkern und zwar diesem näher als dem abgestumpften Hinterende. In seiner Nähe entspringt die undulierende Membran, die sich als roter Faden an derselben Seite bis kurz vor dem Vorderende entlang zieht. Hier biegt sie auf die andere Seite über und läuft dann in die ebenso gefärbte Geißel aus, deren genaue Länge leider nicht feststellbar ist, da das Ende derselben von einem roten Blutkörperchen verdeckt wird. Aus demselben Grunde kann man auch die Form der Geißelspitze nicht feststellen, die, nebenbei bemerkt, bei fast sämtlichen aus den Versuchsrindern kulturell gewonnenen Trypanosomen in einem Knöpfchen endigt.

Über die Zugehörigkeit dieses Trypanosomas zu irgendeiner Art, auch darüber, welche Entwicklungsform dieses auffällige Gebilde darstellt, läßt sich bisher aus Mangel an Material nichts sagen, da es mir nicht gelang, andere Trypanosomen in der Blutbahn aufzufinden.“

Dieser beachtenswerte Fund veranlaßte mich, nochmals einen Übertragungsversuch mit Blut solcher Rinder, bei denen in Blutbouillonkulturen Flagellaten auftraten, zu machen.



Übertragungsversuch IV.

Zum Versuchstier wurde in Ermangelung eines neuen Kalbes wiederum Kalb 11 genommen, das schon zu den Übertragungsversuchen I und III gedient hatte.

Am 14. November 1910 nahm ich von vier Rindern des Rassestalls hiesiger Hochschule, bei denen die Prüfung der am 27. bzw. 28. Oktober angelegten Blutbouillonkulturen Kulturflagellaten ergeben hatte, Blut aus der Jugularis, defibrinierte es und injizierte von dem durch ein ausgekochtes Leinentuch filtrierten und mit etwas physiologischer Kochsalzlösung versetzten Blutgemisch 150 ccm dem nun $3^1/_2$ Monate alten Kalb 11 intravenös. Bei drei dieser Rinder aus dem Rassestall entwickelten sich in den am Tage der Injektion angelegten Bouillonkulturen Flagellaten. Während nun bei Kalb 11 bislang weder im Blut noch in Kulturen Trypanosomen gefunden wurden, traten bei demselben am 25. November, also 11 Tage nach der Injektion, mikroskopisch nachweisbare Trypanosomen in der Blutbahn auf, die bis zum 1. Dezember sichtbar blieben. Die Anzahl der Trypanosomen war äußerst gering. In den auf Objektträgern angefertigten Ausstrichen waren durchschnittlich fünf Trypanosomen zu finden. Die Temperatur des Kalbes war nicht wesentlich erhöht. Auffällig an den Trypanosomen war vor allem ihre Größe und Vielgestaltigkeit. [Dieser Befund wurde bereits als vorläufige Mitteilung (17) veröffentlicht.]

Es gelang mir also, bei einem Kalbe nach Injektion von Blut von Kühen, bei denen Kulturflagellaten nachweisbar waren, Trypanosomen in der Blutbahn nachzuweisen. Gleichzeitig konnten auch in den während der Zeit des Auftretens von Trypanosomen bei Kalb 11 angelegten Blutbouillonkulturen Flagellaten beobachtet werden, die aber nicht wie sonst frühestens nach 2 Tagen, sondern schon nach einem Tage in großer Anzahl auftraten, und deren Vermehrung dann aufhörte. In Blutausstrichen von den vier Kühen des Rassestalls konnten keine Trypanosomen gefunden werden.

Nun suchte ich festzustellen, ob durch Injektion von Blut von Kalb 11 bei einem Rinde, das schon früher bei der Prüfung von Blutbouillonkulturen Flagellaten ergeben hatte, Trypanosomen zu erzielen sein würden.

Übertragungsversuch V.

Zu dem Versuch wurde Rind 6 gewählt, das am 25. Juli Kulturflagellaten ergeben hatte, seitdem aber keine mehr gezeigt hatte. Am 2. Dezember 1910, also gerade nach dem Verschwinden der Trypanosomen

bei Kalb 11, wurden dem Rind 6 50 ccm Blut von Kalb 11 intravenös injiziert.

Trotz täglicher genauer Untersuchung von dicken Tropfen, Ausstrichen und Blutbouillonkulturen wurden weder Trypanosomen noch Kulturflagellaten bei Rind 6 beobachtet.

Der Versuch wurde deshalb am 5. Januar abgebrochen.

An die Übertragungsversuche IV und V schließen sich die drei folgenden Versuche eng an. Es galt nämlich festzustellen:

1. Ob das Blut von Kalb 11 für andere Kälber infektiös ist, dergestalt, daß auch bei ihnen Trypanosomen nachzuweisen sind.

2. Ob eine Wiederholung des Übertragungsversuches IV dasselbe Resultat ergibt.

3. Ob das Blut von Rind 6, das nach Injektion von Blut des Kalbes 11 keine Trypanosomen gezeigt hatte, für ein Kalb infektiös ist, so daß bei diesem Trypanosomen auftreten.

Übertragungsversuch VI.

Am 17. Januar 1911 wurden dem ungefähr 6 Monate alten Kalb 15 100 ccm Blut von Kalb 11 zusammen mit 50 ccm physiologischer Kochsalz-

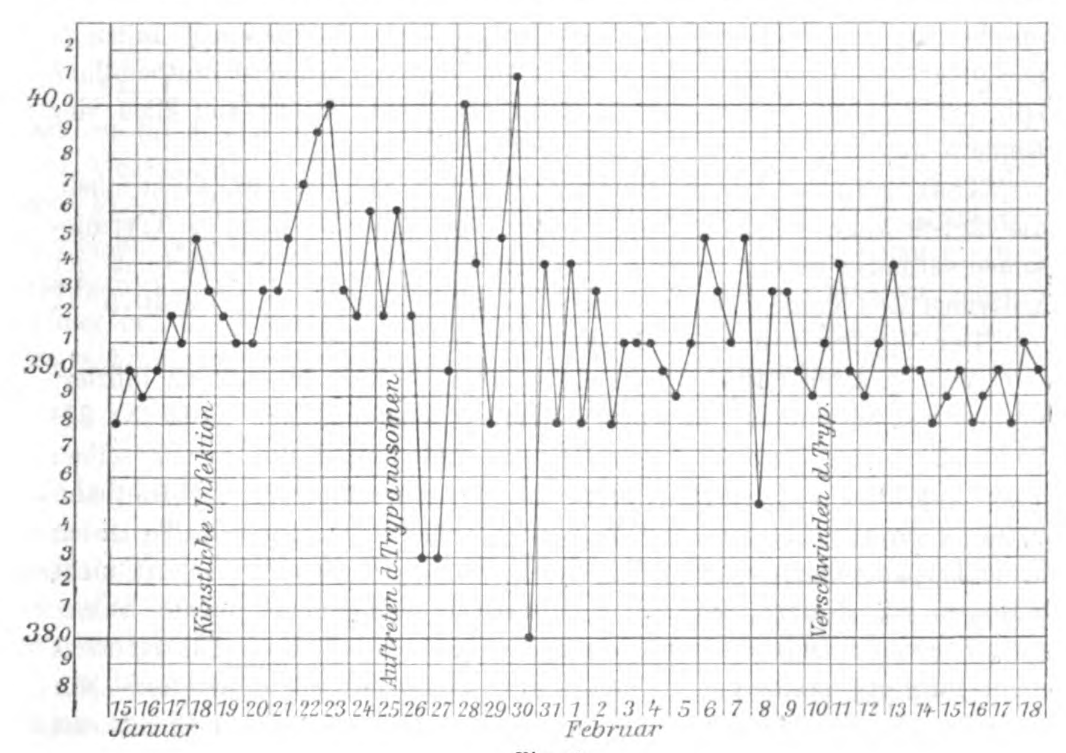


Fig. 1.



lösung intravenös injiziert, nachdem mit Blut desselben vorher 10 Blutbouillonröhrchen angelegt worden waren, die bei der Untersuchung ein negatives Resultat ergaben.

Am 25. Januar traten bei Kalb 15 Trypanosomen im Blute auf. die sich bis zum 10. Februar nachweisen ließen. Während der Inkubationszeit, die in diesem Falle nur 8 Tage betrug, und auch während des Vorhandenseins der Trypanosomen in der Blutbahn war die Temperatur des Kalbes zeitweise leicht fieberhaft erhöht und ziemlichen Schwankungen ausgesetzt, wie die Fieberkurve (Fig. 1) zeigt.

Die Trypanosomen traten bei Kalb 15 in weit größerer Anzahl auf als bei Kalb 11. Auch bei Kalb 15 traten in Blutbouillonkulturen nur so lange Kulturformen auf, als im Blute Trypanosomen nachzuweisen waren.

Der Versuch ergibt, daß das Blut von Kalb 11 $1^1/_2$ Monate nach dem Verschwinden der Trypanosomen aus der Blutbahn noch für ein anderes Kalb infektiös war.

Übertragungsversuch VII.

Wiederholung von Übertragungsversuch IV.

Am 16. Januar wurden dem etwa 6 Monate alten Kalb 13 100 ccm eines Gemisches von Blut von denselben 4 Kühen des Rassestalles, vermischt mit 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung, intravenös injiziert, nachdem sowohl von Kalb 13 als auch von den vier Rindern Blutbouillonkulturen angelegt worden waren. Die Blutbouillonkulturen von allen vier Rindern aus dem Rassestall zeigten Kulturflagellaten.

Trotz eifrigster Untersuchung von dicken Tropfen und Ausstrichen, die täglich angefertigt wurden, konnten bei Kalb 13 niemals Trypanosomen gefunden werden. Die Körpertemperatur von Kalb 13 zeigte in der kritischen Zeit große Schwankungen und stieg einmal sogar bis 40.5° C.

Der Versuch wurde am 20. Februar abgebrochen.

Am 13. August 1911 wurde nachgeprüft, ob Kalb 13 wirklich infiziert worden war oder nicht. Es wurden nämlich einem anderen Kalbe (Nr. 23) 50 ccm Blut von Kalb 13 intravenös injiziert und Kalb 13 am selben Tage mit Blut von einem Kalbe, das Trypanosomen in der Blutbahn hatte, geimpft. Bei dem mit Blut von Kalb 13 geimpften Kalbe traten keine Trypanosomen auf, dagegen bei Kalb 13. Da es mir bis jetzt nicht gelungen ist, Kälber, die schon einmal Trypanosomen gezeigt haben, wieder neu zu infizieren, muß ich annehmen, daß Kalb 13 seinerzeit nicht infiziert worden war. Das Resultat dieses Versuches überrascht um so mehr, als sich zur Zeit, wo Kalb 13 geimpft wurde, bei sämtlichen zur Impfung verwendeten Kühen Kulturflagellaten nachweisen ließen.



Übertragungsversuch VIII.

Dieser Versuch sollte dartun, ob das Blut von Rind 6, das nach Injektion von Blut des Kalbes 11 keine Trypanosomen ergeben hatte, für ein Kalb infektiös wäre, so daß bei diesem wiederum Trypanosomen nachgewiesen werden könnten.

Zu diesem Zwecke wurden dem etwa 5 Monate alten Kalb 14 am 17. Januar 100 ccm Blut von Rind 6, vermischt mit 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung, intravenös injiziert.

Je 6 von Kalb 14 und Rind 6 vorher angelegte Blutbouillonröhrchen blieben negativ.

Weder durch dicke Tropfen noch durch Ausstriche konnten bei dem geimpften Kalbe Trypanosomen beobachtet werden, obgleich 1 Monat hindurch täglich Untersuchungen daraufhin angestellt wurden.

Die Temperatur von Kalb 14 zeigte in der ganzen Zeit nichts Auffälliges.

Am 20. Februar wurde der Versuch abgebrochen. Kalb 14 zeigte, nachdem es am 31. III. mit trypanosomenhaltigem Blut von Kalb 19 geimpft worden war, Trypanosomen im Blute, war also im Januar nicht infiziert worden.

Dieser Versuch bestätigt das Resultat von Übertragungsversuch V.

Es war somit nicht gelungen, Rind 6 mit Trypanosomen zu infizieren.

Übertragungsversuch IX.

Am 3. August 1911 injizierte ich dem Kalb 11, bei dem vom 25. November bis 1. Dezember 1910 Trypanosomen nachgewiesen worden waren vgl. Übertragungsversuch IV), intravenös 100 ccm Blut von Kalb 22, das gerade Trypanosomen zeigte. Bei Kalb 11 konnten trotz genauer Untersuchung Trypanosomen nicht gefunden werden. Dieser Versuch, zusammen mit anderen gleichartigen, zeigt, daß es bei einem Kalbe, das schon früher mit Trypanosomen infiziert wurde, nicht mehr zu einer erneuten Vermehrung dieser Blutparasiten nach Injektion von infektiösem Blut kommt.

Übersicht.

1. Zwei Versuche, bei jungen Kälbern durch subkutane Injektion von 5- bzw. 13 tägigen Blutbouillonkulturen, die Flagellaten aufwiesen, Trypanosomen oder Kulturflagellaten zu erzielen, ergaben ein negatives Resultat. Diese Versuche bestätigen also die von Miyajima und Martini hierüber gemachten Angaben nicht.

2. Es gelang unter drei Versuchen einmal, bei einem Kalbe durch Injektion von Blut solcher Rinder, die bei der Prüfung Kulturflagellaten ergaben, Trypanosomen in der Blutbahn hervorzurufen.



3. Das Blut eines Kalbes, bei dem die Trypanosomen aufgetreten waren, erwies sich für ein anderes Kalb als infektiös, so daß bei diesem Trypanosomen nachgewiesen werden konnten, nicht dagegen für ein Rind, bei dem die Prüfung auf Kulturflagellaten 4 Monate vorher solche ergeben hatte. Ob dieser negative Ausfall des Infektionsversuches darauf zurückzuführen ist, daß das Blut von Kalb 11 am Impfungstage keine Trypanosomen enthielt oder ob Rind 6 gegen die Infektion immun war, läßt sich nicht genau entscheiden.

4. Es gelang nicht, ein Kalb, bei dem 8 Monate vorher Trypanosomen nachgewiesen worden waren, durch Injektion von trypanosomenhaltigem Blut eines anderen Kalbes von neuem dergestalt zu infizieren, daß wiederum Trypanosomen auftraten.

7. Morphologie der neu aufgefundenen Trypanosomen.

Die Trypanosomen, die bei Kalb 11 und 15 (vgl. Übertragungsversuch IV und VI) in der Blutbahn beobachtet wurden, weisen eine große Mannigfaltigkeit der Formen auf. Besonders auffallend sind die Schwankungen in bezug auf Größe und Breite. Die Länge der Trypanosomen schwankt nämlich zwischen 20 und 70 μ, die Breite zwischen 1·6 und 12 μ. Die verschiedenartigen Formen lassen sich unschwer in drei Gruppen gliedern, nämlich in:

a) große schlanke Formen,
b) große breite „
c) kleine schlanke „ ,

zwischen denen Übergänge nicht gerade häufig zu bemerken sind.

Neben den Unterschieden in bezug auf Größe und Breite, die schon aus den Bezeichnungen zu entnehmen sind, unterscheiden sich diese Formen auch durch ihre Färbbarkeit und ihren inneren Aufbau.

Einige Merkmale sind aber allen Trypanosomen gemeinsam. Ein solches ist zunächst das Hinterende derselben, das immer in eine meist sehr feine Spitze ausläuft und in gefärbten Ausstrichen stets mehr oder weniger stark hakenförmig gebogen ist. Ferner liegt der Hauptkern der Trypanosomen immer in der hinteren Hälfte des Plasmaleibes. Der Blepharoplast ist randständig. Teilungsformen konnte ich bei den Trypanosomen nur außerordentlich selten nachweisen. Die in Figg. 27 und 28, Taf. VIII abgebildeten Teilungsformen sind die einzigen, die ich aufzufinden vermochte. Das in Fig. 27, Taf. VIII abgebildete Trypanosoma zeigt zwei hintereinander gelagerte Hauptkerne. Der Teilung des Hauptkernes ist aber merkwürdigerweise die des Blepharoplasten nicht voraufgegangen, wie es sonst bei der Teilung von Trypanosomen die Regel



zu sein pflegt. Ob die in Fig. 28, Taf. VIII abgebildete Form wirklich als Teilungsform anzusehen ist, könnte zweifelhaft erscheinen. Man sieht hier zwar eine zweite Geißel, die frei nach außen ragt, man sollte aber auch hier eine vorherige Teilung des Blepharoplasten erwarten.

Unter den vielen Trypanosomen, die ich zu Gesicht bekam, befanden sich drei, bei denen der Blepharoplast vor bzw. neben dem Hauptkern lag. Diese Formen gleichen den beim Trypanosoma theileri zuerst beobachteten Formen, die von Laveran als besondere Trypanosomenart angesehen und mit dem Namen Trypanosoma transvaaliense belegt wurden. Es steht jedoch fest, daß es sich hierbei nur um Entwicklungsstadien bzw. Variationen einer einzigen Art handelt. Eine solche typische Form ist in Fig. 25, Taf. VIII abgebildet. Dann fanden sich einige wenige kleine Formen, bei denen sich der Blepharoplast dicht hinter dem noch immer ziemlich weit nach hinten gelegenen Hauptkern befand (Fig. 26, Taf. VIII). Es scheint also, als wenn der zuerst hinter dem Blepharoplasten gelegene Hauptkern bei diesen Formen allmählich nach vorn in seine gewöhnliche Lage wandert.

Die ersten nach der Infektion auftretenden Formen waren äußerst spärlich und gehörten größtenteils den kleinen schlanken Formen an. Überhaupt traten die Trypanosomen in so geringer Menge auf, daß ich nur mit einem verschiebbaren und auf Zahlen einstellbaren Objekttisch, vermittelst dessen sich jederzeit die einmal gefundenen Trypanosomen wieder einstellen ließen, erfolgreich arbeiten konnte. Mit der Zunahme der Trypanosomen traten dann gleichzeitig alle drei Formen auf, die bis zum Ende der Infektion nachweisbar blieben. In bezug auf das Mengenverhältnis der drei Formen war bei den Infektionen von Kalb 11 und 15 ein Unterschied wahrzunehmen.

Bei Kalb 11 waren

29 Prozent große schlanke Formen,
45 ,, große breite ,, und
26 ,, kleine schlanke ,,

vorhanden, dagegen bei Kalb 15

55 Prozent große schlanke Formen,
23 ,, große breite ,, und
22 ,, kleine schlanke ,, .

Ähnlich wie bei Kalb 15 war das Mengenverhältnis bei den folgenden Passagen.

Aus der Menge der großen breiten Formen bei Kalb 11 erklärt sich die Durchschnittsbreite, die an 86 Trypanosomen gemessen wurde. Sie

betrug bei Kalb 11 bei einer Durchschnittslänge von 52·7 μ = 4·3 μ, dagegen bei Kalb 15 bei einer Länge von 51·02 μ nur 2·96 μ.

Die drei verschiedenartigen Formen der Trypanosomen sollen im folgenden näher beschrieben werden.

A. Große schlanke Formen (Figg. 31 und 32, Taf. VIII).

Die großen schlanken Formen bewegen sich, im hängenden Tropfen beobachtet, äußerst lebhaft. Eine Ortsbewegung tritt aber meistens nicht ein. Mit Giemsa-Lösung färbt sich vor allem das Protoplasma dieser Formen intensiv und zwar bläulich-violett. Bei vielen Exemplaren sieht man — oft nur im Vorderende vorhandene, oft über den ganzen Plasmaleib verlaufende — parallele Streifen (Myoneme), die sich dunkler färben als das dazwischenliegende Protoplasma. Der hinter der Mitte des Plasmaleibes gelegene Hauptkern färbt sich tief rot, ist meistens rund und von kompakter Struktur. Der Blepharoplast ist randständig und färbt sich dunkelviolett, außerdem liegt er dem Hauptkern näher als dem Hinterende; oft hat er eine bohnenförmige Gestalt. In dem dadurch entstehenden Ausschnitt entspringt dann der Randfaden, der sich in vielen Windungen am Plasmaleib entlang zieht und in die Geißel ausläuft. Der Randfaden ist manchmal nicht wellenförmig, sondern zickzackartig gestaltet. Mit dem Trypanosoma ist der Randfaden durch eine gut ausgebildete undulierende Membran verbunden, die ein dünnes, sich durchscheinend gelblich färbendes Plasmahäutchen bildet und am Plasmakörper gerade entlang läuft. Die Geißellänge beträgt ungefähr $^1/_5$ der Gesamtlänge des Trypanosomas. Das Hinterende desselben läuft fast immer in eine feine Spitze aus, die etwas gekrümmt erscheint. Oft sieht man eine feine rötliche Fibrille als Verlängerung des Randfadens über den Blepharoplasten hinaus nach hinten verlaufen; durch diese mag die Krümmung des Hinterendes bedingt sein.

B. Große breite Formen (Figg. 33 und 34, Taf. VIII).

Diese Formen sind ungefähr ebenso lang wie die oben beschriebenen langen schmalen, unterscheiden sich jedoch von den letzteren zunächst durch die hellere Farbe des Protoplasmas, die hier himmelblau ist; das Protoplasma zeigt oft einen alveolären Bau. Von dem spitzen Hinterende aus verdickt sich der Körper des Trypanosomas allmählich und erreicht meist zwischen Blepharoplasten und Hauptkern die größte Breite, die bis zu 12 μ betragen kann; durchschnittlich beträgt sie 5 bis 6 μ. Oft ist das Protoplasma, und zwar hauptsächlich vor dem Kern, von sehr vielen Granula erfüllt, die kugelig und etwas kleiner als der Blepharoplast sind und sich wie dieser dunkelviolett färben. Bei starker Lichtquelle nehmen



sie eine leuchtend rote Farbe an. Der Hauptkern ist quer gestellt und füllt oft die ganze Breite des Trypanosomas aus; dagegen pflegt der Längsdurchmesser des Kerns ein sehr geringer zu sein. Oft ist die Mitte des Kerns hellrot gefärbt, während an den Rändern desselben dunkle Chromatinmassen lagern. Der randständige Blepharoplast liegt ungefähr in der Mitte zwischen Hauptkern und Hinterende, oft ersterem etwas näher. Von einer undulierenden Membran ist bei diesen breiten Formen meist sehr wenig zu sehen, man sieht nur den Randfaden, der dem Plasmaleib eng anliegt und häufig in einer großen S-förmigen Schraubenwindung bis zum Geißelansatz verläuft. Die Bewegung dieser Formen im hängenden Tropfen ist nicht besonders stark. Sie ist entweder so, daß sich das Trypanosoma um die eigene Längsachse dreht, oder sie geschieht schnellend. Zu den großen breiten Formen gehört das in einem Blutausstrich von Rind 10 gefundene und auf S. 389 beschriebene Trypanosoma. Die abweichende starke Färbung dieses in Fig. 35, Taf. VIII wiedergegebenen Trypanosomas rührt daher, daß es aus einem nachgefärbten Präparate stammt und bei Tageslicht gezeichnet wurde.

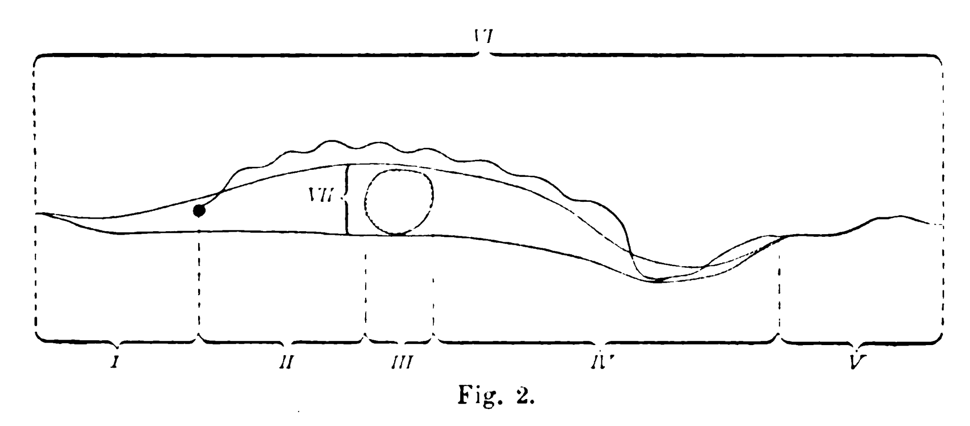


Fig. 2.

I. Abstand zwischen Hinterende und Blepharoplasten.
II. Abstand zwischen Blepharoplasten und Hinterende des Hauptkerns.
III. Länge des Hauptkerns.
IV. Abstand zwischen dem Vorderende des Hauptkerns und dem Vorderende des Plasmaleibes.
V. Länge der freien Geißel.
VI. Gesamtlänge des Trypanosomas.
VII. Größte Breite des Trypanosomas.

C. Kleine schlanke Formen (Figg. 29 und 30).

Typisch für diese Formen ist zunächst das eigenartig gefärbte Protoplasma, das häufig an die Färbung der roten Blutkörperchen erinnert, oder doch neben blau gefärbten rötlich-bräunliche Stellen aufweist. Der



Hauptkern färbt sich sehr stark und ist in der Längsachse ausgezogen, so daß er oft zweimal so lang wie breit ist. Ein weiterer Unterschied von den anderen Formen liegt darin, daß der Blepharoplast dem Hinterende näher liegt als dem Hauptkern. Der Blepharoplast ist ziemlich groß und zeigt oft eine Einschnürung. Die undulierende Membran ist nicht stark ausgebildet, der Randfaden zeigt nur geringe Windungen. Der Plasmaleib erscheint bei diesen Formen an der Geißelwurzel schärfer von der Geißel abgesetzt. Die Geißel ist ziemlich lang, sie beträgt $^1/_4$ bis $^1/_3$ der Gesamtlänge des Trypanosomas. In den gefärbten Präparaten ist das Hinterende solcher Formen meist stark hakenförmig gekrümmt. Die Länge der kleinen schlanken Formen beträgt etwa 39 μ. Im lebenden Zustande zeigen diese Trypanosomen eine sehr große Beweglichkeit.

Über die Größenverhältnisse der drei Formen geben genaue Messungen die beste Übersicht. Ich habe deshalb annähernd 200 Trypanosomen gemessen. Hierzu wurde das von Lingard vorgeschlagene Schema (siehe S. 397) verwendet.

a) Große schlanke Formen.

I	II	III	IV	V	VI	VII
12	10	2	24	14	62	2·4
13	8	2	22	12	57	2·2
10	8	2	18	12	50	3
17	10	2·4	26	13	68·4	3
10	9	2·3	24	13	58·3	2·6
10	8	2	26	10	56	2·4

Der Durchschnitt von 75 Exemplaren ergibt folgende Zahlen:

11·50	8·68	2·21	23·26	11·36	57·01	2·41

b) Große breite Formen.

I	II	III	IV	V	VI	VII
8	9	3	30	10	60	6
8	10	2·5	24	8	52·5	7
10	9	2·4	24	10	55·4	5
9	11	2	34	10	66	12
12	6	2	27	10	57	7
10	8	2·2	26	10	56·2	4

Durchschnitt von 65 Exemplaren:

9·51	8·78	2·29	23·42	10·48	54·48	5·91



c) Kleine schlanke Formen.

I	II	III	IV	V	VI	VII
4	5	2·4	12	7	30·4	1·7
6	6	2·8	14	10	38·8	2
4	9	2·4	14	10	39·4	2
6	6	2·4	16	16	46·4	1·6
3	4	2	9	9	27	2
4	6	2·2	12	12	36·2	2

Durchschnitt von 61 Exemplaren:

4·93	6·27	2·28	14·17	11·42	39·07	2·09

Zusammenstellung.

	I	II	III	IV	V	VI	VII
Große schlanke Formen .	11·50	8·68	2·21	23·26	11·36	57·01	2·41
Große breite „ .	9·51	8·78	2·29	23·42	10·48	54·48	5·91
Kleine schlanke „ .	4·93	6·27	2·28	14·17	11·42	39·07	2·09

Aus dieser Tabelle, die die absoluten Größenverhältnisse der drei Formen angibt, sind vor allem die Unterschiede in bezug auf Länge und Breite zu ersehen. Will man dagegen den inneren Bau der drei Formen vergleichen, so gibt eine Zusammenstellung, in der die Gesamtlänge aller drei Formen = 100 gesetzt ist, den besten Aufschluß. Eine solche Tabelle ergibt folgende Zahlen:

	I	II	III	IV	V	VI	VII
Große schlanke Formen .	20·19	15·21	3·87	40·72	20·01	100	4·23
Große breite „ .	17·50	16·11	4·20	42·92	19·27	100	10·82
Kleine schlanke „ .	12·72	16·05	5·82	36·24	29·17	100	5·34

Nach den heutigen Anschauungen über verschiedene bei einer Trypanosomenart vorkommende Formen kann man annehmen, daß es sich hier um einen Geschlechtstrimorphismus handelt, und zwar wären die in der Mehrzahl vorhandenen stark beweglichen, großen schlanken Formen, die sich intensiv färben, vielleicht als indifferente Formen anzusehen, während die beiden anderen Formen für Geschlechtsformen zu halten wären. Von diesen sind die hellblau gefärbten, großen breiten Formen mit alveolärem Bau, die sich wegen der nur sehr schwach ausgebildeten undulierenden Membran und ihrer Breite nicht besonders gut bewegen können, dann als weibliche Individuen anzusehen. Auch das Auftreten

von Granula in ihnen spricht dafür, ebenso wie die Tatsache, daß gerade sie es vor allem sind, die sich in Blutbouillonkulturen vermehren. Gegen die Annahme, daß es sich bei den großen breiten Formen um absterbende Individuen handeln könnte, spricht die soeben erwähnte Tatsache, daß sie sich einige Zeit nach der Blutentnahme sowohl in Blut als auch besonders in Blutbouillonkulturen sehr lebhaft zu teilen beginnen, wovon im nächsten Kapitel die Rede sein soll. Die schwach gefärbten kleinen schmalen Formen wären wegen des großen sehr chromatinreichen Kerns und Blepharoplasten und auch wegen der lebhaften Beweglichkeit als männliche Formen anzusehen.

8. Verhalten der gefundenen Trypanosomen in Blutbouillonkulturen.

Die Trypanosomen verhalten sich in Blutbouillonkulturen folgendermaßen:

In den ersten Stunden nach dem Anlegen der Kultur sieht man zunächst bei den großen breiten Formen eine Verkürzung des Längendurchmessers und eine zunehmende Verbreiterung. Hierbei stumpft sich das bis dahin spitze Hinterende ab. Dann beginnt das Individuum, sich zu teilen, was nach 8 bis 12 Stunden zu geschehen pflegt. Diese Teilung ist in den meisten Fällen eine ausgesprochene Querteilung. Zunächst teilt sich der Blepharoplast, nachdem er sich dem Hauptkern bedeutend genähert hat. Von den beiden Blepharoplasten liegt derjenige, welcher an der Geißel bleibt, dem Hauptkern am nächsten, während der andere weiter nach hinten liegt und anfängt, eine neue Geißel zu bilden, die frei seitwärts aus dem Plasmaleibe hervorragt, nie eine undulierende Membran hat und auch nie die Länge der anderen Geißel, d. h. der Geißel des Mutterindividuums, erreicht. Zugleich mit der Bildung der neuen Geißel pflegt sich der Hauptkern vermittels Durchschnürung zu teilen. Die beiden Kerne sind noch einige Zeit hindurch miteinander durch eine dünne fadenförmige Spindel verbunden. Sie lagern sich hintereinander. Von den neuen Kernen liegt der eine entweder vor oder neben demjenigen Blepharoplasten, der an der Hauptgeißel sitzt, während der andere sich so weit nach hinten lagert, daß er schließlich hinter dem zweiten Blepharoplasten liegt. Dann erfolgt die Durchschnürung des Plasmakörpers, die sich zunächst durch einen hellen Streifen andeutet, der quer über das Trypanosoma geht.[1] Nach vollständiger Trennung voneinander beginnen nun die beiden selbständigen Individuen eine lebhafte Teilung,

[1] Weil es sich bei der Querteilung von Trypanosomen um einen sehr interessanten und teilweise immer noch bestrittenen Vorgang handelt, sind in Taf. VIII, Figg. 36 bis 38 drei derartige Formen abgebildet.



wobei die Geißel des ursprünglichen Trypanosomas immer einem Individuum verbleibt und durch ihre bedeutende Länge sofort zu erkennen ist (Taf. VIII, Fig. 39). 24 Stunden nach dem Anlegen der Kultur sieht man zuweilen 8, oft noch mehr kleine Flagellaten, die alle aus einem Trypanosoma hervorgegangen sind, zusammenliegen. Die so entstandenen crithidienähnlichen Flagellatenformen vermehren sich durch Längsteilung, wenn sie gestreckt sind und eine kleine undulierende Membran haben oder aber durch einfache Durchschnürung, wenn sie rundlich sind (Taf. VIII, Figg. 40 u. 41). Nie zeigen die auftretenden Formen ein so spitzes Hinterende, wie es bei den Kulturflagellaten die Regel ist, auch ist die Geißel bei ihnen niemals geknöpft. Die Kulturformen der Trypanosomen sind fast immer mit feinen rötlichen Granula im Protoplasma versehen, außerdem kann man bei ihnen oft, und zwar hauptsächlich vor dem Blepharoplasten, Vakuolen bemerken.

Am ersten, spätestens am zweiten Kulturtage hört die Vermehrung der entstandenen Flagellaten auf. Dieselben halten sich zwar noch einige Tage — ich habe sie spätestens am 12. Tage auffinden können —, degenerieren aber vollständig. Sie nehmen eckige, unregelmäßige Formen an, bewegen sich gar nicht mehr oder äußerst schwach und färben sich sehr schlecht.

An Stelle der Zweiteilung der ursprünglichen Trypanosomen kann man zuweilen auch Vierteilung beobachten, wobei dann die Tochterzellen kleeblattartig zusammenhängen.

Zu der Bildung von Kulturformen tragen nicht alle drei oben beschriebenen Trypanosomenformen in gleichem Maße bei, sondern die weitaus meisten Kulturformen gehen aus den großen breiten Trypanosomen hervor. Die großen schlanken Formen sind nur in geringem Grade daran beteiligt, die kleinen schlanken Formen scheinen überhaupt nicht daran teilzunehmen, ich habe jedenfalls nie Stadien gefunden, die sich auf diese Formen zurückführen ließen. Dazu kommt, daß man die kleinen schlanken Formen in den Kulturen verhältnismäßig häufig und in ihrer typischen Gestalt antrifft; so sah ich z. B. eine solche Form noch am 5. Tage in lebhafter Bewegung.

Die Kulturformen der Trypanosomen können auch in defibriniertem, steril aufbewahrtem Blut beobachtet werden, allerdings nicht in so großer Anzahl und nicht so lange, wie in Blutbouillonkulturen. Sobald die Trypanosomen im Blute nicht mehr färberisch nachweisbar sind, treten auch in Blutbouillonkulturen keine Kulturformen mehr auf.

Daß diese Trypanosomen auch auf anderen Nährböden Kulturformen bilden können, zeigen die Untersuchungen von K. Behn (18), dem es gelang, dieselben auf Rinderblutagar zu züchten.



9. Besteht ein Zusammenhang zwischen den gefundenen Trypanosomen und den sogenannten Kulturflagellaten?

Stellen wir die bei den Kulturflagellaten und die bei den Trypanosomen gewonnenen Resultate einander gegenüber, so ergibt sich folgendes:

1. Die noch nicht genauer bekannten Blutparasiten, die in Blutbouillonkulturen die Kulturflagellaten entstehen lassen, können im Blute von Rindern verschieden lange, sogar $^1/_2$ Jahr lang ununterbrochen (s. Versuch IV) vorhanden sein, so daß während der ganzen Zeit durch Blutbouillonkulturen Flagellaten nachzuweisen sind. Während der Zeit, in der Kulturflagellaten auftreten, sind im Blut der betreffenden Rinder der Regel nach keine Trypanosomen zu finden. Eine Ausnahme bildet allerdings der auf Seite 389 beschriebene Fund eines Trypanosomas bei einem Rinde, bei dem sich gleichzeitig Kulturflagellaten nachweisen ließen. Da dieser Befund aber ganz vereinzelt dasteht, kann er sehr wohl auf eine Mischinfektion zurückgeführt werden.

Die Trypanosomen dagegen sind nur in einer bestimmten Zeit nachzuweisen, deren Grenze ungefähr zwischen dem 4. und 20. Tage nach der künstlichen Infektion liegt. Nur während dieser Zeit, d. h. nur so lange, als Trypanosomen gefunden werden können, treten in den Blutbouillonkulturen die oben beschriebenen Kulturformen der Trypanosomen auf. Nachher sind, trotzdem das Blut der Kälber infektiös bleibt, in Blutbouillonkulturen nie wieder Flagellaten zu beobachten. Es gelingt auch nicht, Kälber, die einige Zeit vorher mit diesen Trypanosomen infiziert wurden, von neuem dergestalt zu infizieren, daß wiederum Trypanosomen und demgemäß in Blutbouillonkulturen Kulturformen der Trypanosomen auftreten.

2. Bei den Kulturflagellaten sind präflagellate, zum Teil endoleukozytäre Formen zu finden. Die ersten geißeltragenden Formen sind — und zwar in äußerst geringer Anzahl — frühestens nach 42 Stunden nachweisbar. Zwischen dem 6. und 10. Kulturtage kommt es zu einer Vielteilung, bei der typische Flagellaten von Chrithidienform, deren Geißel geknöpft und deren Hinterende zugespitzt ist, auftreten. Die Kulturflagellaten halten sich in den Kulturen sehr lange; sie ließen sich beispielsweise noch in 6 Monate alten Kulturen nachweisen.

Im Gegensatz zu den eigentlichen Kulturflagellaten können bei den Kulturformen der Trypanosomen nie Formen beobachtet werden, die als präflagellate Formen anzusprechen sind. Die ersten in Blutbouillonkulturen aus Trypanosomen hervorgehenden Flagellatenformen, deren Geißeln nie geknöpft sind, treten bereits während des 1. Kultur-



tages auf. Unter diesen sind immer solche zu finden, die durch sehr lange Geißel und stark ausgebildete undulierende Membran auf ihre direkte Abstammung von einem Trypanosoma hindeuten. Zur Ausbildung einer typischen Form, wie bei den Kulturflagellaten, kommt es nicht; es treten allerdings crithidienähnliche Formen auf, die aber in Größe und Bau ziemlich variieren. Die Vermehrung der Kulturformen der Trypanosomen hört am 2. Tage bereits auf. Von dieser Zeit an degenerieren dieselben und gehen spätestens bis zum 12. Kulturtage zugrunde.

3. Die sogenannten Kulturflagellaten gelangen in aufbewahrtem defibriniertem Blute nicht zur Entwicklung. Bei den Kulturformen der beschriebenen Trypanosomen ist dies jedoch der Fall.

Aus dieser Gegenüberstellung dürfte deutlich hervorgehen, daß zwischen den Kulturflagellaten und den Kulturformen der Trypanosomen sehr erhebliche Unterschiede nicht nur morphologischer, sondern auch biologischer Art bestehen. Wenn auch z. B. der Fund eines Trypanosomas bei dem Rinde Nr. 10, bei dem sich während der betreffenden Zeit Kulturflagellaten nachweisen ließen, und auch das Resultat von Übertragungsversuch IV dafür zu sprechen scheinen, daß ein Zusammenhang zwischen dem Rindertrypanosoma und den Kulturflagellaten besteht, so muß doch in Betracht gezogen werden, daß in diesen Fällen sehr wohl eine Mischinfektion bestanden haben kann. Es ist sehr gut denkbar, daß eine der vier Kühe, deren Blut dem Kalb 11 injiziert wurde (vgl. Übertragungsversuch IV) mit Trypanosomen infiziert war und diese auf Kalb 11 übertragen hat. Für diese Annahme spricht der Ausfall von Übertragungsversuch VI. Es ist nämlich ziemlich unverständlich, warum bei Kalb 13 keine Trypanosomen auftraten, trotzdem es mit Blut derselben vier Kühe des Rassestalles geimpft wurde und diese alle in Blutbouillonröhrchen Kulturflagellaten ergaben, während bei Übertragungsversuch IV nur drei derselben solche Flagellaten gezeigt hatten. Daß Kalb 13 nicht resistent war, bewies ein später gelungener Infektionsversuch.

Aus allen bisherigen Ausführungen kann man ersehen, daß für die Zusammengehörigkeit von Trypanosomen und Kulturflagellaten keine einwandfreien Beweise zu erbringen sind. Alle Versuche können dagegen dahin gedeutet werden, daß es sich um verschiedenartige Erreger handelt. Diese Annahme wird insbesondere durch die morphologischen Untersuchungen gestützt.

Ich komme somit zu dem Schlusse, daß die bei Rindern kulturell nachweisbaren Flagellaten nicht aus Trypanosomen hervorgehen. Auf



Grund der in den ersten Kulturtagen auftretenden präflagellaten Formen könnte man vermuten, daß die in Blutbouillonkulturen sich entwickelnden Flagellaten im Blute der betreffenden Rinder als sehr kleine, geißellose, vielleicht endoleukozytäre Parasiten vorhanden sind.

10. Stellt dieses Rindertrypanosoma eine neue Art dar?

Das von mir gefundene Trypanosoma habe ich nur mit den in Deutschland bisher beobachteten Rindertrypanosomen verglichen.

Hier kommt vor allem als Vergleichsobjekt das Trypanosoma franki in Betracht, über das morphologische Studien vorliegen. Schon aus einem oberflächlichen Vergleich des oben beschriebenen Trypanosomas mit dem Trypanosoma franki ersieht man jedoch, daß beide nicht identisch sind. Bezüglich der Größen- und Breitenverhältnisse der beiden Trypanosomenarten bestehen nämlich ganz bedeutende Abweichungen.

Knuth (6) unterscheidet beim Trypanosoma franki drei der Größe nach verschiedene Formen und gibt für diese folgende Durchschnittszahlen an:

	I	II	III	IV	V	VI	VII
Große Exemplare . . .	5	7	3·5	16	8	39·5	2
Mittelgroße Exemplare . .	4·59	6·09	3·16	10·36	6·27	30·30	2·13
Kleine Exemplare . . .	3	5	3·4	6·7	3	21·1	2

Die oben beschriebenen Trypanosomen haben dagegen folgende Maße:

	I	II	III	IV	V	VI	VII
Große schlanke Formen .	11·50	8·68	2·21	23·26	11·36	57·01	2·41
Große breite „ .	9·51	8·78	2·29	23·42	10·48	54·48	5·91
Kleine schlanke „ .	4·93	6·27	2·28	14·17	11·42	39·07	2·09

Ob das Trypanosoma mit den von Stockman und Schmitt beschriebenen Trypanosomen identisch ist, läßt sich wegen der kurzen und in mancher Beziehung unvollständigen Beschreibung dieser Autoren nicht mit Sicherheit feststellen.

Von anderen ähnlichen Trypanosomenarten, z. B. Trypanosoma theileri, scheint sich das von mir aufgefundene Trypanosoma vor allem durch das Auftreten von drei differenten Formen, seine Züchtbarkeit auf Blutagar und die Entwicklung von Kulturformen in Blutbouillon und defibriniertem Blut, die von Theiler bisher wenigstens nicht beschrieben worden sind, zu unterscheiden.



11. Schlußfolgerungen.

1. Die bei Rindern kulturell nachweisbaren Flagellaten gehen nicht aus Trypanosomen hervor.

2. Es gelang, bei den Kulturflagellaten präflagellate Stadien — zum Teil als endoleukozytäre Formen — nachzuweisen.

3. Als Überträger des Blutparasiten, der die Kulturflagellaten hervorruft, dürfte Stomoxys calcitrans in Betracht kommen.

4. Eine Infektion von Kälbern durch positive Blutbouillonkulturen oder Blut solcher Rinder, die Kulturflagellaten ergaben, dergestalt, daß in Blutbouillonkulturen der Impflinge wiederum typische Kulturflagellaten nachgewiesen werden könnten, gelang nicht. Vielleicht liegt dies daran, daß Kälber gegen die Infektionen immun sind; es konnten nämlich bei Kälbern niemals Spontaninfektionen beobachtet werden.

5. Dagegen gelang es, bei Versuchen dieser Art ein Rindertrypanosoma zu entdecken, das sich durch seine Größe und Breite auszeichnet und bei dem man drei verschiedene Formen, nämlich große schlanke, große breite und kleine schlanke Formen, unterscheiden kann; es stellt anscheinend eine neue Art dar. Dieses Trypanosoma bildet in defibriniertem, einige Zeit aufbewahrtem Blut und vor allem in Blutbouillon crithidienähnliche Kulturformen, die sich aber von den eigentlichen Kulturflagellaten wesentlich unterscheiden.

6. Das neu entdeckte Trypanosoma läßt sich auf Kälber leicht übertragen. Kälber, die einmal infiziert wurden, bleiben auch nach dem Verschwinden der Trypanosomen aus der Blutbahn noch mehrere Monate lang infektiös. Bei den Infektionen mit diesem Trypanosoma wurden bei den geimpften Kälbern außer geringgradigem Fieber keine Krankheitserscheinungen wahrgenommen.



Literatur.

1. Weber, *Beihefte zum Archiv f. Schiffs- u. Tropenhygiene.* Bd. XIII. S. 143.

2. Schaudinn (1904), Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. XX. S. 387—439.

3. Frank, Über den Befund von Trypanosomen bei einem in Stein-Wingert (Westerwald, Reg.-Bez. Wiesbaden) verendeten Rinde. *Zeitschrift für Infektionskrankheiten der Haustiere.* 1908/09. Bd. V. S. 313—315.

4. Frank und Frosch, Über die Bedeutung des Befundes rinderpathogener Trypanosomen in Deutschland. *Ebenda.* 1908/09. Bd. V. S. 330—334.

5. Frosch, Ätiologische Ermittelungen über das Trypanosoma Frank. *Ebenda.* 1908/09. Bd. V. S. 316—329.

6. Knuth, Über die Morphologie des Trypanosoma Frank. *Ebenda.* 1909. Bd. VI. S. 39—45.

7. Stockman, Preliminary Note on a Trypanosome of British Cattle. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics.* 1910. Vol. XXIII. Part. 2.

8. Schmitt, Zum Vorkommen von Trypanosomen vom Typus des Trypanosoma theileri in deutschen Rindern. *Berliner tierärztl. Wochenschrift.* 1910. Nr. 44.

9. Knuth u. Rauchbaar, Weitere Nachforschungen nach Trypanosomen beim Rinde im Kreise Westerwald nebst einem Beitrage zur Kenntnis der in deutschen Stechfliegen (Spezies: Tabanus und Haematopota) parasitierenden Flagellaten. *Zeitschrift für Infektionskrankheiten der Haustiere.* 1910. Bd. VIII. S. 140—154.

10. Miyajima (1907), On the cultivation of a bovine piroplasma. *Philippine Journ. Sc. B. Manila Med. Sc.* v. 2, May. p. 83—92. pls. 1—3. figs. 1—12.

11. E. Martini, Über die Entwicklung eines Rinderpiroplasmas und -trypanosomas im künstlichen Nährboden. *Diese Zeitschrift.* Bd. LXIV. S. 385—410.

12. Crawley, Trypanosoma Americanum n. sp. a Trypanosome, which appears in cultures made from the blood of American Cattle. *Journ. of Trop. Veter. Sc.* 1910. V. p. 295—308,

13. Knuth, Rauchbaar und Morgenstern, Nachweis von Trypanosomen beim Rinde im Kreise Oberwesterwald mittels Züchtung in Blutbouillon. *Berliner tierärztl. Wochenschrift.* 1910. Nr. 27.

14. Knuth und Rauchbaar, Zum Vorkommen von Trypanosomen bei Rindern in Deutschland. *Ebenda.* 1910. Nr. 31.

15. P. Behn, Präflagellate Entwicklungsstadien der in deutschen Rindern kulturell nachweisbaren Trypanosomen. *Ebenda.* 1910. Nr. 46.

16. Derselbe, Über Entwicklungsformen des Trypanosoma franki. *Ebenda.* 1910. Nr. 42.

17. Derselbe, Infektion eines Kalbes mit Trypanosomen vom Typus des Trypanosoma theileri mittels Blut von Kühen, in denen nur kulturell Flagellaten nachweisbar waren. *Ebenda.* 1910. Nr. 50.

18. K. Behn, Wachstum von Bluttrypanosomen aus deutschen Rindern auf Blutagar. *Ebenda.* 1911. Nr. 17.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. VII u. VIII.)

Tafel VII.

Figg. 1 bis 24 Kulturflagellaten.

Figg. 1 bis **3.** Endoleukozytäre Stadien.
Figg. 4 bis **6**. Geißellose Formen aus sehr jungen Kulturen.
Fig. 7. Birnförmiger Flagellat.
Fig. 8. Reifenform.
Fig. 9. Kulturform in Längsteilung.
Figg. 10 und **11.** Multiple Teilung.
Figg. 12 und **13.** In der Streckung begriffene Formen.
Fig. 14. Typischer Kulturflagellat (Crithidienform).
Fig. 15. Zwei mit dem Hinterende noch verwachsene Kulturflagellaten.
Figg. 16 bis **24.** Formen aus älteren Kulturen.
Fig. 17. Kulturflagellat mit drei hintereinander liegenden Hauptkernen.
Figg. 18 und **19.** Kleine, sehr bewegliche chromatinreiche Formen.
Figg. 21 und **22.** Kaulquappenähnliche Formen.
Fig. 23. Kulturflagellat mit typischer Trypanosomenform.
Fig. 24. Form mit keulenartig verdicktem Vorderende.

Tafel VIII.

Figg. 25 bis 35 Trypanosomen aus der Blutbahn.

Fig. 25. Trypanosoma, bei dem der Blepharoplast dicht vor dem Hauptkern liegt.
Fig. 26. Blepharoplast dicht hinter dem Hauptkern.
Figg. 27 und **28.** Teilungsformen.
Figg. 29 und **30.** Kleine schlanke Formen.
Figg. 31 und **32.** Große schlanke Formen.
Figg. 33 und **34.** Große breite Formen.
Fig. 35. Das bei Rind 10 gefundene Trypanosoma. [Die starke Färbung rührt daher, daß das Trypanosoma aus einem nachgefärbten Präparat stammt und bei Tageslicht gezeichnet wurde, im Gegensatz zu allen anderen Bildern, die bei Gaslicht gezeichnet wurden.]



Figg. **36** bis **41** Kulturformen der Trypanosomen.

Figg. 36 bis **38.** Querteilung von Trypanosomen.

Fig. 39. Vollendete Teilung in vier Flagellaten.

Figg. 40 und **41.** Kulturformen bei der Teilung.

Die mit Hilfe eines Zeichenapparates unter Verwendung des Apochromaten und des Kompensationsokulars 6 des Zeissschen Mikroskops angefertigten Zeichnungen sind das Werk des Hrn. Kunstmalers M. Landsberg. Sie stellen eine genaue Wiedergabe der mikroskopischen Bilder dar.



[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
(Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Lentz.)

Über die „Cholerarotreaktion".

Von

Regierungstierarzt Dr. **Wölfel**
(Deutsch-Ost-Afrika).

Während am Ende der achtziger und zu Anfang der neunziger Jahre die Nitrosoindolreaktion als Differentialdiagnosticum der Cholerabazillen eine große Rolle spielte (9), trat sie nach der Einführung der serologischen Untersuchungsmethoden und durch die Feststellung, daß sie nicht für Choleravibrionen spezifisch ist, sondern auch bei anderen Vibrionen vorkommt, mehr in den Hintergrund. Dazu kam, daß die Reaktion bei Verwendung der Peptonlösung in der bisher üblichen Zusammensetzung mit einem Nitratzusatz von 1 Promille[1] in ihrer Intensität erheblich schwankte und häufig nur sehr undeutlich auftrat. Da die Ursache dieser Unregelmäßigkeiten unklar war, veranlaßte mich Hr. Prof. Dr. Lentz, die Bedingungen zu ermitteln, unter denen die Nitrosoindolreaktion am deutlichsten ist.

Die „Cholerarotreaktion" wurde zuerst von Poehl (11) im Jahre 1886 beobachtet. Bei der Prüfung von in Gelatinestichkulturen gezüchteten Choleravibrionen auf ihr Reduktionsvermögen mittels Eisenchlorid und Blutlaugensalz sah er neben dem Berliner Blau einen roten Farbstoff auftreten. Kurze Zeit darauf fanden Bujwid (4) und Dunham (7) unabhängig voneinander die Reaktion bei Kulturen in flüssigen Nährböden und verwandten sie zu diagnostischen Zwecken. Später stellte sie Günther (8) auch an Strichkulturen an.

[1] Vgl. die Anweisung des Bundesrats zur Bekämpfung der Cholera. S. 54.

Brieger (3) und Salkowsky (12) wiesen nach, daß der auftretende Farbstoff ein Indolderivat ist, das durch die Verbindung von in den Kulturen sich bildendem Indol mit durch den Zusatz von Säuren aus Nitriten freiwerdender salpetriger Säure entsteht. Der letztgenannte Autor nahm an, daß die Nitrite durch Oxydation aus abgespaltenem Ammoniak entstehen. Petri (10) dagegen stellte fest, daß die Choleravibrionen die in den Nährböden vorhandenen Nitrate zu Nitriten reduzieren und diese nicht durch Oxydation anderer stickstoffhaltiger Bestandteile der Substrate gebildet werden.

Schon Bujwid (6) und Dunham (7) geben an, daß die Reaktion durch die Art der Zusammensetzung des Nährbodens beeinflußt wird. Ebenso Beyerink (1), nach ihm soll sie bei 2prozentiger Peptonlösung und bei zu großen Zusätzen von Kaliumnitrat verschwinden.

Bleisch (2) befaßte sich eingehend mit der Ermittlung der Ursachen, welche die Rotreaktion verhindern oder vortäuschen können. Zur Vermeidung aller Fehlerquellen empfiehlt er, den Nährboden nach folgendem Rezept herzustellen:

Pepton. sicc. (Witte)	2·0
Natr. chlorat. puriss.	0·5
Aqu. dest.	100·0

Sol. Kal. nitric. puriss. (0·08:100) 30 bis 50 Tropfen.

Stutzer und Burri (13) prüften die Wirkung, welche verschiedene äußere Einflüsse auf die Nitrosoindolreaktion ausüben. Nach ihnen ist es gleichgültig, ob die Kulturen bei Tageslicht oder in der Dunkelheit gehalten werden. Dagegen gaben die Kulturen bessere Reaktionen, wenn sie bei 37° gezüchtet wurden, als wenn dies bei Zimmertemperatur geschah. Vor allem aber fanden die beiden Autoren, wie Dahmen (6) schon vor ihnen, daß die Choleravibrionen am besten auf alkalischen Nährböden gedeihen und eine bessere Rotreaktion geben, als in neutralen Lösungen. Sie empfehlen für Reaktionen nach 6stündigem Bebrüten ½prozentige Peptonlösungen, 1 bis 2prozentige dagegen für Reaktionen bei 24 Stunden alten Kulturen.

Da nach Bleisch (2) die Bouillon wegen ihres inkonstanten Gehalts an Nitraten und Nitriten für die Cholerarotreaktion ungeeignet ist, benutzte ich bei meinen Untersuchungen ausschließlich Peptonwasser. Bei der Herstellung desselben legte ich die vom preußischen Kultusministerium herausgegebene „Anleitung für die bakteriologische Feststellung der Cholera“ zugrunde und variierte den Nitrat- und Peptongehalt.

Die Lösungen wurden vor dem Zusatz der Nitrate stets auf das Vorhandensein von solchen und von Nitriten mittels Diphenylaminschwefel-



säure geprüft. Dieses empfindliche Reagens konnte jedoch minimalste Spuren von Nitraten bzw. Nitriten nicht nachweisen. Diese wurden mit Hilfe der Nitrosoindolreaktion in den bei jedem Versuch mit angesetzten Kontrollröhrchen ermittelt, waren aber stets so gering, daß sie auf den Ausfall der Reaktion in den übrigen Röhrchen keinen störenden Einfluß hatten.

Das Kaliumnitrat wurde in der Weise zugesetzt, daß von verschieden starken Stammlösungen entsprechende Mengen in je 100 ccm Peptonlösung gebracht wurden. Die Stammlösung wurde dabei stets so gewählt, daß die zugesetzte Menge 1 ccm nicht überschritt. War der Zusatz kleiner als 1 ccm, so wurde die an diesem Volumen fehlende Menge durch destilliertes Wasser ergänzt. Nach dem Zusatz des Nitrats wurden die Peptonlösungen in Reagensgläser so verteilt, daß jedes Röhrchen 5 ccm enthielt, und hierauf in der üblichen Weise sterilisiert.

Zwecks Beimpfung der Röhrchen wurde von einer 24stündigen Agarkultur eine Öse in $^1/_2$ ccm physiologischer Kochsalzlösung zu einer gleichmäßigen Emulsion aufgeschwemmt und jedes Röhrchen mit einer Öse der Aufschwemmung besät.

Die Nitrosoindolreaktion wurde in der Weise angestellt, daß zu jeder Kultur 2 bis 3 ccm 10prozentiger Schwefelsäure gegossen, und die Röhrchen dann 5′ in ein Wasserbad von 80° C gestellt wurden.

Zunächst suchte ich den Einfluß zu ermitteln, den der Nitratgehalt des Peptonwassers auf die Nitrosoindolreaktion ausübt, und dabei das Optimum des Nitratgehalts der Nährflüssigkeit für die Reaktion bei Verwendung verschiedener Vibrionen festzustellen. Zu diesem Zwecke wurden 4 echte Cholerastämme, 4 eingeißlige und 1 mehrgeißliger Vibrio geprüft.

Es wurden 1prozentige Peptonlösungen mit 0·5 Prozent Kochsalz, 0·2 Prozent Natriumkarbonat und abgestufte Mengen von Kaliumnitrat in der oben beschriebenen Weise beimpft und 24 Stunden bei 37 C gehalten. Die Resultate sind aus folgender Tabelle I ersichtlich.

Es gaben also die Kulturen von 2 Cholerastämmen und 3 eingeißligen Vibrionen die beste Reaktion bei einem Nitratzusatz von $^1/_{200000}$, ein Cholerastamm bei einem solchen von $^1/_{100000}$, ein eingeißliger Vibrio gleicherweise bei $^1/_{100000}$ und $^1/_{200000}$ und ein Cholerastamm gleichmäßig bei $^1/_{83000}$, $^1/_{100000}$ und $^1/_{200000}$.

Der mehrgeißlige Vibrio zeigte überhaupt keine Nitrosoindolreaktion. In einigen Röhrchen trat eine schwache Rosafärbung auf. Da sich diese jedoch nicht mit Amylalkohol ausschütteln ließ, war sie anscheinend nicht durch Nitrosoindol hervorgerufen worden. Nach Brieger (3) kann eine schwache Rosafärbung auch durch die Einwirkung der Schwefelsäure auf das Pepton entstehen.



Tabelle I.
Bebrütungszeit: 24 Stunden.

Name des Stammes	Kontrolle ohne KNO_3-Zusatz	KNO_3 $^1/_{5000000}$	KNO_3 $^1/_{1000000}$	KNO_3 $^1/_{500000}$	KNO_3 $^1/_{200000}$	KNO_3 $^1/_{100000}$	KNO_3 $^1/_{83300}$	KNO_3 $^1/_{66600}$	KNO_3 $^1/_{50000}$	KNO_3 $^1/_{33300}$
Ruhleben I . .	Spur von Rosafärbg.	Spur von Rosafärbg.	ganz schwach rosaviolett	rosaviolett	**rosaviolett** [1] **(etwas stärker)**	rosa, Stich ins Violette	nicht beimpft	rosa	rosa	blaßrosa
H. Jungclaus . .	„	„	„	„	**violettrosa**	**rosa, Stich ins Violette**	**rosa, Stich ins Violette**	„	„	„
Gami 7. . . .	„	„	„	„	**violettrosa**	rosa, Stich ins Violette	rosa, Stich ins Violette	„	rosa, Stich ins Gelbe	„
Gami 8. . . .	„	ganz schwach rosaviolett	„	„	violettrosa	**rosa, Stich ins Violette**	„	„	rosa	rosa, etwas blasser
Vibrio 1595 . .	„	Spur von Rosafärbg.	Spur von Rosafärbg.	„	**rosaviolett (etwas stärker)**	rosa, Stich ins Violette	„	„	„	blaßrosa
„ 2243 . .	schwach rosa	„	schwach rosaviolett	„	**violettrosa**	**rosa, Stich ins Violette**	„	„	„	„
„ 2234 . .	„	nicht beimpft	„	„	**violettrosa**	**violettrosa (etwas blasser)**	„	„	„	rosa
„ Stade . .	Spur von Rosafärbg.	„	„	„	**violettrosa**	rosa, Stich ins Violette	„	rosa, Stich ins Violette	„	rosa, Stich ins Hell-braune
„ Z. II . .	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	Spur von Rosafärbg.	ganz schwach blaßrosa	schwach blaßrosa [2]

[1] Die fettgedruckten Reaktionen sind die kräftigsten jeder Reihe.
[2] Farbe war mit Amylalkohol nicht auszuschütten.

Tabelle II. Bebrütungszeit: 24 Stunden.

Name des Stammes	Pepton	Kontrolle ohne KNO_3-Zusatz	KNO_3 $^1/_{1000000}$	KNO_3 $^1/_{500000}$	KNO_3 $^1/_{200000}$	KNO_3 $^1/_{100000}$
Ruhleben I.	$^1/_2$ Prozent	**blaßrosa**	rosaviolett	**rosaviolett**	**violettrosa**	**rosa, Stich ins Gelbe**
	1 „	„	**blaßrosa,** Stich ins Violette	rosaviolett	**violettrosa**	**rosa, Stich ins Hell-braune**
	2 „	Spur von Rosafärbung	rosa	„	violettrosa	**violettrosa (kräftiger)**
	3 „	„	Spur von Rosafärbg.	rosa	„	**violettrosa (kräftiger)**
	4 „	„	„	hellrot	**rosa,** Stich ins Violette	**violettrot**
H. Jungclaus.	$^1/_2$ Prozent	Spur von Rosafärbung	**blaßrosa,** Stich ins Violette	**blaßrosa,** Stich ins Violette	blaßrosa	blaßrosa, Stich ins Gelbe
	1 „	blaßrosa	rosaviolett	blaßrosa?	**violettrosa**	**violettrosa**
	2 „	„	„	rosaviolett (etwas stärker)	**violettrot**	**violettrot**
	3 „	„	„	desgl.	**violettrot**	**violettrot**
	4 „	„	„	„	**violettrot**	**violettrot** (stärker)
Vibrio 1595.	$^1/_2$ Prozent	blaßrosa	**rosaviolett**	**rosaviolett**	rosa	rosa, Stich ins Gelbe
	1 „	„	rosa, Stich ins Violette	**rosaviolett**	**rosaviolett**	rosa
	2 „	Spur von Rosafärbung	desgl.	rosa, Stich ins Violette	**violettrosa**	**violettrosa**
	3 „	„	blaßrosa	rosa	**violettrot**	**violettrot**
	4 „	„	„	„	violettrot	**violettrot** (stärker)
Vibrio 2234.	$^1/_2$ Prozent	blaßrosa	**blaßrosa,** Stich ins Violette	**blaßrosa,** Stich ins Violette	blaßrosa	blaßrosa, Stich ins Gelbe
	1 „	Spur von Rosafärbung	rosaviolett	**violettrosa**	**violettrosa** (Spur blasser)	**rosa, Stich ins Hell-braune**
	2 „	„	rosa	rosaviolett	**violettrosa**	violettrosa (etwas schwächer)
	3 „	„	„	„	**violettrosa**	**violettrosa** (etwas stärker)
	4 „	„	„	„	rosaviolett	**violettrosa**

Nach 5tägiger Bebrütung zeigten bei allen 8 Stämmen diejenigen die beste Reaktion, welche Kaliumnitrat im Verhältnis von $^{1}/_{200000}$ enthielten.

Es bestand sonach bei den verschiedenen Stämmen eine ziemlich ausgesprochene Übereinstimmung, was auch durch weitere gleichartige Versuche bestätigt wurde. Ich konnte mich daher darauf beschränken, die Versuche mit 2 Cholerastämmen und 2 eingeißligen Vibrionen fortzusetzen.

Durch diese sollte zunächst der Einfluß des Peptongehaltes auf die Reaktion geprüft werden. Zu dem Zwecke wurden $^{1}/_{2}$, 1, 2, 3 und 4prozentige Peptonlösungen hergestellt, welche 0·5 Prozent Kochsalz, 0·2 Prozent Natriumkarbonat und abgestufte Mengen von Kaliumnitrat enthielten. Sie wurden in der oben beschriebenen Weise in Reagenzgläser verteilt und beimpft. Die Resultate sind aus Tabelle II ersichtlich.

Die Reaktionen der Kulturen waren in den 2, 3 und 4prozentigen Peptonlösungen erheblich kräftiger als in den $^{1}/_{2}$ und 1prozentigen. Sie wurden jedoch bei den 3 und 4prozentigen Lösungen durch die von Haus aus dunkelgelbe Farbe der Nährflüssigkeit beeinträchtigt, was bei dem 2prozentigen Peptonwasser nicht der Fall war. Das letztere scheint daher für die Anstellung der Nitrosoindolreaktion am geeignetsten zu sein. Ferner ergibt sich aus der Tabelle, daß für den guten Ausfall der Reaktion nach 24stündigem Bebrüten mit steigendem Peptongehalt auch der Zusatz von größeren Mengen Kaliumnitrat nötig ist.

Schon die ersten Versuche hatten gezeigt, daß das Optimum der Reaktion bei verschieden langer Bebrütung mit der Länge der Zeit von den Röhrchen mit schwächerem Nitratzusatz zu denen mit stärkerem hinüberrückt und an Intensität zunimmt. Diese Beobachtung wurde durch den in Tabelle III wiedergegebenen Versuch bestätigt. Bei diesem wurde eine 2prozentige Peptonlösung mit 0·5 Prozent Kochsalz, 0·2 Prozent Natriumkarbonat und abgestuften Mengen Kaliumnitrat verwandt.

Das Hinüberrücken des Optimums der Nitrosoindolreaktion nach den Röhrchen mit höherem Nitratzusatz dürfte auf die Vermehrung der Vibrionen und die dadurch bedingte stärkere Umsetzung des Peptons in Indol zurückzuführen sein. Aus dem gleichen Grunde liegen die besten Reaktionen bei den 2 bis 4prozentigen Peptonlösungen, in denen ein kräftigeres Wachstum erfolgt als in den $^{1}/_{2}$ und 1prozentigen, bei den Röhrchen mit höherem Nitratgehalt. (Tabelle II.)

Wie die Versuche ergeben, muß für das Zustandekommen der kräftigsten Reaktion ein bestimmtes Verhältnis zwischen den gebildeten Nitriten und dem entstandenen Indol bestehen. Mit zunehmender Indolbildung wächst also der Bedarf an Nitriten. Es muß daher, damit die Vibrionen die Nitrite in genügender Menge bilden können, sowohl dem Pepton-



Tabelle III.

Name des Stammes	Bebrütungszeit	Kontrolle	KNO_3 $^{1}/_{200000}$	KNO_3 $^{1}/_{100000}$	KNO_3 $^{1}/_{33000}$	KNO_3 $^{1}/_{20000}$	KNO_3 $^{1}/_{12500}$	KNO_3 $^{1}/_{10000}$	KNO_3 $^{1}/_{6600}$	KNO_3 $^{1}/_{5000}$	KNO_3 $^{1}/_{3300}$
Ruhleben I.	24 Stdn.	Spur von Rosafärbung	rosaviolett	**violettrot**	rosa, Stich ins Violette	rosa	rosa, Stich ins Gelbe	rosa, kräftigerer Stich ins Gelbe	rosa, kräftigerer Stich ins Gelbe	rosa, kräftigerer Stich ins Gelbe	rosa, Stich ins Gelbe
	3 Tage	„	rosa	rosaviolett	**violett**	**weinrot**	dunkelrot	rot	orange	orange (etw. heller)	orange (etw. heller)
	5 „	„	„	rosa, Stich ins Violette	violett	violett	**violett** (etw. dunkler)	weinrot	weinrot	rot	rot
	7 „	„	Spur von Rosafärbg.	rosa	„	violettrot	**dunkelweinrot**	**dunkelweinrot**	„	„	rot (etw. orange)
Jungclaus	24 Stdn.	Spur von Rosafärbg.	**rosaviolett**	**rosaviolett**	rosa	rosa	rosa	rosa, Stich ins Gelbe	rosa, Stich ins Gelbe	rosa, Stich ins Gelbe	rosa, Stich ins Gelbe
	3 Tage	„	rosaviolett	violettrosa	**violettrot**	nicht angegangen	rot, Stich ins Gelbe	rot, Stich ins Gelbe	orange	orange	orange
	5 „	„	Spur von Rosafärbg.	rosaviolett	violett	**violettrot**	weinrot	weinrot	rot, Stich ins Gelbe	„	„
	7 „	„	„	rosa	„	**violettrot**	**dunkelweinrot**	**dunkelweinrot**	rot	rot-orange	„
Vibrio 1595.	24 Stdn.	Spur von Rosafärbg.	**violettrosa**	**violettrosa** (etw. stärker)	rosa	rosa, Stich ins Gelbe	rosa, Stich ins Gelbe	rosa, Stich ins Gelbe	hellbraun	hellbraun	hellbraun
	3 Tage	„	rosa, Stich ins Violette	rosaviolett	violettrot	**weinrot**, Stich ins Violette	rot, Stich ins Gelbe	orange	orange	orange	orange
	5 „	„	rosa	rosa, Stich ins Violette	violett	**violettrot**	**weinrot**	hellrot	weinrot (etw. heller)	weinrot (etw. heller)	„
	7 „	„	„	desgl.	„	violettrot	weinrot	**weinrot** (etw. dunkler)	weinrot	rot-orange	„
Vibrio 2243.	24 Stdn.	Spur von Rosafärbg.	**violettrosa**	**violettrosa**	rosa	rosa, Stich ins Hellbraune	rosa, Stich ins Hellbraune	nicht beimpft	nicht beimpft	blaß, hellbraun	nicht beimpft
	3 Tage	„	blaßrosa	violettrosa	**violett**	violettrot	hellrot	rot, Stich ins Gelbe	orange	orange	orange
	5 „	„	blaß, rosaviolett	rosaviolett	**violett**	**violettrot**	weinrot	rot	rot-orange	„	„
	7 „	„	Spur von Rosafärbg.	rosa	violett	**violettrot**	**weinrot**	weinrot (etw. heller)	rot	rot-orange	„

gehalt der Kulturflüssigkeit als auch der Länge der Bebrütungszeit entsprechend der Nitratzusatz zum Nährboden gesteigert werden. Für die Prüfung der Reaktion nach 24 Stunden, welche Bebrütungszeit wohl dem praktischen Bedürfnis am meisten entsprechen dürfte, hat sich mir eine 2prozentige Peptonlösung mit 0·0075 Nitratzusatz am besten bewährt.

Kurz erwähnen möchte ich noch, daß die Indolreaktion bei zu hohem Nitrat- bzw. Nitritgehalt der Kulturflüssigkeit negativ ausfällt, weil dann durch den Zusatz von Schwefelsäure ein so starker Überschuß von salpetriger Säure aus den Nitriten freigemacht wird, daß dadurch in der Kulturflüssigkeit die Xanthinreaktion ausgelöst wird.

Zusammenfassung.

1. Die von mir untersuchten Vibrionen gaben unter gleichen Bedingungen bei etwa dem gleichen Nitratgehalt des Peptonwassers die beste Nitrosoindolreaktion.

2. Der Nitratgehalt muß in älteren Kulturen höher sein, als in nach kürzerer Bebrütung zur Reaktion verwandten.

3. Zu starke Nitratzusätze stören die Reaktion.

4. 2prozentige Peptonlösungen sind für die Reaktion am geeignetsten.

Für die Vornahme der Reaktion nach 24stündiger Bebrütung empfiehlt sich eine Peptonlösung von folgender Zusammensetzung:

Pepton. sicc.	2·0
Natr. chlorat.	0·5
Kal. nitr.	0·0075
Natr. carbonat	0·2
Aq. dest.	ad 100·0.

Literatur.

1. Beyerink, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1. Abt. Bd. XII.
2. Bleisch, *Diese Zeitschrift.* Bd. XIII u. XIV.
3. Brieger, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1887. Nr. 15 u. 22.
4. Bujwid, *Diese Zeitschrift.* Bd. II.
5. Derselbe, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1. Abt. Bd. IV.
6. Dahmen, *Ebenda.* Bd. XII.
7. Dunham, *Diese Zeitschrift.* Bd. II.
8. Günther, *Einführung in das Studium der Bakteriologie.* 1902.
9. Kolle, Kolle-Wassermann, *Handb. d. pathog. Mikroorganismen.* 1903.
10. Petri, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1. Abt. Bd. V.
11. Poehl, *Berichte der deutschen chem. Gesellschaft.* 1886.
12. Salkowski, Virchows *Archiv.* Bd. CX.
13. Stutzer u. Burri, *Diese Zeitschrift.* Bd. XIV.



[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut der Universität Basel.]
(Vorsteher: Prof. Hedinger.)

Untersuchungen über eine menschenpathogene Sarcina tetragena.

Von

Dr. **Jean Louis Burckhardt,**
II. Assistenten.

Über Erkrankungen des Menschen, welche durch die Sarcina tetragena oder den Micrococcus tetragenus verursacht wurden, finden wir in den Lehr- und Handbüchern der Bakteriologie recht wenig. Im Handbuch von Kolle und Wassermann wird der Micrococcus tetragenus nur als Mischinfektionserreger erwähnt, und auch Kolle und Hetsch schreiben darüber bloß folgendes: „In der menschlichen Pathologie spielt der Micrococcus als Mischerreger bei chronischer Lungentuberkulose eine gewisse Rolle. Namentlich in größeren Kavernen scheint er sich anzusiedeln und unter Umständen auch in das Lungengewebe als Mischinfektionserreger einzudringen.“ Baumgarten ist in diesem Punkte noch kritischer, indem er schreibt: „Ob ihre Anwesenheit im Kavernensekret einen schädlichen Einfluß ausübt, ist zweifelhaft, da sichere Beweise einer pathogenen Wirksamkeit des in Rede stehenden Coccus beim Menschen bisher nicht erbracht sind. In der Literatur finden sich zwar mehrfach Beobachtungen angeführt, in welchen dieser Coccus als Erreger von Abszessen, eitrigen Entzündungen seröser Häute, ja sogar von septischen Allgemeinerkrankungen aufgetreten sein soll. Doch ermangeln diese Beobachtungen der sicheren Beweiskraft, da für keine derselben die etwaige gleichzeitige Anwesenheit von pyogenen Staphylo- oder Streptokokken in exakter Weise ausgeschlossen worden ist. Ich selbst habe niemals den Micrococcus tetragenus im Innern der Organe oder im Blute des Menschen gefunden und muß daher



nach alledem bis auf weiteres die Menschenpathogenität desselben in Frage stellen.“ Lehmann und Neumann registrieren das Vorkommen in Lungenkavernen, in Abszessen und bei Angina und schreiben ferner: „Es ist durch einige Versuche“ (sc. am Menschen) „bewiesen, daß der Pilz Eiterung erregt und sie nicht nur begleitet (Viquerat ..).“ Im Lehrbuche von Heim findet sich endlich der Passus: „Micrococcus tetragenus ... wurde zuerst von R. Koch gesehen und von G. Gaffky aus Lungenkaverneneiter rein gezüchtet, später ist er manchmal bei Mandel- und Rachenentzündungen, dann als Mischinfektion im Blute mit Typhus und zweimal mit Streptokokken von O. Meltzer ... gefunden worden. von Heim in einer pneumonischen Lunge allein und von anderen als primärer Erreger von Sepsis (s. K. Ziegler ...).“

Beim Studium der Originalliteratur finden wir bedeutend mehr, als nach den obigen Angaben zu erwarten wäre. Ich möchte daher die mir zugänglichen Fälle von Infektionen, bei denen der Micrococcus tetragenus als alleiniger Erreger in Frage kommt, kurz anführen und nachher noch die Fälle von Mischinfektionen erwähnen, da auch letztere zum Teil für die Kenntnis der biologischen Eigenschaften des Erregers wichtig sind. Auf die nähere bakteriologische Beschreibung werde ich erst weiter unten eingehen.

Die vorliegenden Fälle lassen sich wohl ungezwungen in drei Gruppen einteilen. In erster Linie finden wir lokale Erkrankungen des Mundes und der Atmungsorgane. Darnach folgen zweitens die Fälle von Bakteriämie und Sepsis mit bekanntem oder unbekanntem Ausgangspunkte. An dritter Stelle kommen andere lokale Erkrankungen.

Unter den Krankheiten des Mundes und der Atmungsorgane finden wir zunächst Aperts Beschreibung einer „Angine sableuse“ kombiniert mit geringgradiger Pleuritis (letztere nicht bakteriologisch untersucht). Lartigau[1] fand ebenfalls einmal bei einer Angina den Tetragenus rein. Deléarde beschreibt eine Bronchopneumonie von sechswöchentlicher Dauer mit Ausgang in Heilung. Dabei fand sich im Sputum reichlich Tetragenus und spärliche, nicht näher bestimmte Stäbchen, denen er wohl mit Recht keine Rolle beimißt. Auch Heim erwähnt in seinem Lehrbuche einen eigenen Fall von Pneumonie, und Bosc et Galavielle berichten über eine gangränöse Pneumonie. Steinhaus beschreibt einen nußgroßen Abszeß am Unterkiefer, der seinen Ausgangspunkt wohl von kariösen Zähnen nahm. Hierher gehören noch die Fälle von Karlinski und nach R. Müller diejenigen von Park und Kapper, doch lassen sich die bakteriologischen Angaben von Karlinski nicht nachprüfen, und die anderen Fälle waren mir nicht zugänglich.

[1] Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.*

Die Fälle von Allgemeininfektionen möchte ich zur Erleichterung der Beurteilung etwas ausführlicher wiedergeben. Es kommen hier zunächst einige tödlich verlaufende Erkrankungen, zum Teil mit Sektionsbefund in Betracht, dann mehrere Fälle, die in Heilung übergingen.

Chauffard et Ramond, Fall I.

15jähr. Mädchen. Starke Grippe, darauf Mattigkeit und andere Beschwerden. Nach einem Monat plötzlich Schmerzen in verschiedenen Gelenken, dann blutiges Sputum, Dyspnoe und papulöses Exanthem. Exitus nach 11 Tagen. Im Kniegelenk wurde ein Tag vor dem Tode braunroter Eiter mit öligen Tröpfchen gefunden. Die Sektion ergab Perikarditis und Pleuritis mit demselben Exsudat, Endocarditis ulcerosa, zwei große Abszesse im Myokard, zwei septisch erweichte Lungeninfarkte, Milztumor mit erbsenbis nußgroßen Abszessen, Hyperämie der Nieren mit miliären Abszessen im Mark, sowie Hämorrhagien im Darm. Im Eiter wurde überall Tetragenus rein nachgewiesen, in den Lungeninfarkten daneben noch Bacterium coli.

Fall Castaigne:

Älterer Mann. Juli 1896. Zerquetschung beider Beine durch Wagenrad. Langdauernde Eiterung. Im Dezember kam dazu eine Pleuritis, die nach einem Monat anscheinend in Heilung überging. März 1897 Pleuritis purulenta mit 2 Liter milchigeitrigem Exsudat, darin Tetragenus rein. In der eitrigen Wunde am Bein fanden sich zur selben Zeit neben Tetragenus noch Staphylokokken und Streptokokken, in einem Abszeß an der Kopfhaut nur Tetragenus. Später wurde dieser auch reichlich im Sputum nachgewiesen. Exitus 10. April 1897. Die Sektion zeigte eine Pleuritis rechts mit 2 Liter rahmigem Eiter und völliger Retraktion der rechten Lunge, ferner bronchopneumonische Herde in der linken Lunge sowie miliare und größere Abszesse in den Nieren. Im Eiter dieser Organe fand sich Tetragenus rein, im Herzblut zusammen mit spärlichen Streptokokken. Der Fall ist aus letzterem Grunde wohl angreifbar.

Fall Arullani:

Nach dem Referat im C. f. Bakt. handelt es sich um einen 47jähr. Mann, der mit schwerer Anämie, Phlebitis der unteren Gliedmassen, leichterem Fieber, Durchfall, Netzhautblutungen und Milzvergrößerung zugrunde ging. Kein Sektionsbefund. Im Blut, Stuhl, Harn und Milz Micrococcus tetragenus.

Chauffard et Ramond, Fall II, möchte ich hier anführen, obschon der gefundene Tetragenus wegen seiner Eigenschaft der Gelatineverflüssigung nicht zu den typischen gezählt werden kann.

18jähr. Mann. Plötzliche Erkrankung mit Schüttelfrost, Erbrechen und Gelenkschmerzen. Nach zwei Tagen trat Schwellung des rechten Kniegelenkes auf, später Schwellung des ganzen Beines und der Inguinaldrüsen. Nach 8 Tagen, beim Eintritt ins Krankenhaus, fanden sich außer diesem lokalen Befunde nur noch zwei Ulcera an der Zunge und hohes Fieber. Bei Punktion des Gelenkes entleerte sich schokoladefarbene Flüssigkeit mit Fetttröpfchen. Arthrotomie. Exitus am 10. Krankheitstage. Keine Sektion. Kulturen aus dem Gelenkeiter zeigten Tetragenus rein, und auch im Belage der Zungengeschwüre fand er sich.



Von Septikämien, welche in Heilung übergingen, finde ich zwei bakteriologisch einwandfreie Fälle:

Fall Boni (nach dem Ref. C. f. Bakt.):

Junger Mann. Infizierte Hautwunde am Vorderarm. Multiple Hautabszesse und Osteomyelitis. In der Wunde fand sich ein Tetragenus aureus, in Blut und Femurmark ein Tetragenus albus. Das Serum des Patienten agglutinierte beide 1:600. Verfasser nimmt auf Grund von Tierversuchen an, daß es sich um Varietäten desselben Stammes handle.

Fall Ziegler:

17jähr. Frau, 13. März 1908 Angina. Nach etwa 8 Tagen Eiweiß im Urin, das wieder verschwindet. Vom 11. Tage an plötzlich hohes remittierendes Fieber. Dauer 7 Tage. Genesung. Venepunktion ergab Mikrococcus tetragenus albus rein.

Hierher gehörten noch die Fälle Fornaca und Brugnola, die ich nach den kurzen Referaten im C. f. Bakt. und Baumgartens Jahresberichten nicht beurteilen kann, und der Fall von Looten et Qui, deren bakteriologischer Befund sich wegen seiner Kürze der Beurteilung entzieht (Looten et Qui berichten über eine puerperale Infektion mit sehr hohem, bald kontinuierlichem, bald remittierendem Fieber und Eiter im Urin. Durch Venepunktion fand man „une culture abondaute ... qui ne comprend que du tétragèue à l'état pur".).

Deboves Fall von Endokarditis (zit. bei K. Ziegler) war mir weder im Original noch im Referate zugänglich.

Von lokalisierten Erkrankungen, welche nicht oder kaum mit den Atmungsorganen in Zusammenhang zu bringen sind, kommen nur wenige in Betracht.

Zunächst ist ein Fall von Boutron bekannt und bakteriologisch sehr genau beschrieben. Es handelt sich um eine diffuse Mastitis, bei der aus der Milch und der punktierten Flüssigkeit einer geschwellten Axillardrüse ein weißer Tetragenusstamm in Reinkultur gezüchtet wurde. Bezançon beschreibt ferner eine umschriebene, eitrige Meningitis mit Sektionsbefund. Im Eiter wurde mikroskopisch und kulturell Tetragenus rein nachgewiesen. Eine Eingangspforte ist nicht bekannt. Pende (Ref. C. f. Bakt.) fand ebenfalls bei tödlich verlaufender Meningitis einen Micrococcus tetragenus in Reinkultur durch Lumbalpunktion. Eine Obduktion wurde nicht gemacht. Eingangspforte unbekannt. R. Müller berichtet über einen perityphlitischen Abszeß, in dem mikroskopisch und kulturell Tetragenus allein gefunden wurde. Viquerat beschreibt einen kurzdauernden Abszeß nach Schürfung am Hals, in dem er Tetragenus kulturell rein nachwies. Mit diesem Tetragenusstamm erregte er bei mehreren Personen experimentell Eiterungen, einmal mit starker, lokaler Drüsenschwellung. Endlich fand



Jakowski (zit. nach Steinhaus) in zwei Fällen Tetragenusabszesse, einmal an einem Finger, einmal an der Hand (nur Abstrichpräparate untersucht).

Über die Mischinfektionen, bei denen der Micrococcus tetragenus eine mehr oder weniger große Rolle spielt (manchmal anscheinend die Hauptrolle!), will ich mich nicht weiter verbreiten. Es kommen da hauptsächlich die Fälle von Benoit, Boutron, Ceraulo und Vetrano, Delalande, Le Damany, Laignel-Lavastine et Baufle, Meltzer, R. Müller und Sterling in Betracht. Neben dem Tetragenus werden da Tuberkulose, Typhus, Strepto- und Staphylokokken, Pneumokokken, Micrococcus melitensis und verschiedene zum Teil nicht näher bestimmte Stäbchen genannt.

Der Fall, den ich zu beobachten Gelegenheit hatte, betrifft einen 62jähr. Mann, der am 12. August 1911 im pathologischen Institute Basel zur Sektion kam.

Der Krankengeschichte der chirurgischen Klinik entnehme ich die folgenden Angaben:[1]

62jähr. Mann, A. Sch., wurde am 1. August 1911 aufgenommen.

Anamnese: Von früheren Krankheiten gibt Patient nichts an, außer daß er seit einer Reihe von Jahren an Rheumatismus leidet.

Jetzige Krankheit. Vor drei Wochen soll Patient am rechten Vorderarm von einem Insekt (Art unbekannt) gestochen worden sein. Er bemerkte sofort eine starke Rötung und Schwellung. Wegen zunehmender Entzündung längs des Oberarms ging Patient zum Arzt. Er wurde zuerst mit Umschlägen behandelt, dann vor 8 Tagen am Vorderarm inzidiert, aber ohne Erfolg.

Aus dem Aufnahmestatus: Mittelgroßer sehr beleibter Mann (100 ^{kg}) von zyanotischem Aussehen. Die Untersuchung der inneren Organe ergibt nichts Besonderes. Reflexe normal. Der rechte Vorderarm ist im oberen und mittleren Drittel leicht geschwollen; an der Volarseite befindet sich eine etwa 2 ^{cm} lange, klaffende Inzisionsöffnung, deren Grund und Ränder mit Granulationen besetzt sind. Die Wunde sezerniert ganz leicht, die Umgebung ist etwas infiltriert; kein Abszeß nachweisbar.

Über der rechten Spina scapulae zeigt sich eine starke Schwellung und Hautrötung, die sich nach hinten bis zur Wirbelsäure, nach unten bis zur achten Rippe, seitlich bis zur hinteren Axillarlinie ausdehnt. Unmittelbar über der Spina ist die Epidermis stellenweise in Blasen abgehoben, welche einen schwärzlichen Inhalt durchschimmern lassen. Einzelne Blasen sind geplatzt; beim Entfernen der vorhandenen Epidermisfetzen kommen blauschwarz verfärbte, gangränöse Hautstellen zum Vorschein. Die Gangrän der Haut nimmt ein fast handtellergroßes Gebiet ein. Die Umgebung ist

[1] Für die gütige Überlassung der Krankengeschichte danke ich auch an dieser Stelle Hrn. Prof. de Quervain bestens.



infiltriert, für Palpation nicht besonders schmerzhaft; nirgends Erweichung und Fluktuation nachweisbar.

Urinbefund: Bei Kochprobe ziemlich starke, flockige Trübung. Kein Zucker. Im Sediment reichlich gekörnte und einige hyaline Zylinder, mäßig viele Leukozyten und Epithelien.

Während der 11 Tage des Spitalaufenthaltes nahm die Hautgangrän sehr langsam zu, ebenso die Rötung und Schwellung der Umgebung. In den letzten Tagen wurde die Hautstelle am Rande scharf demarkiert und fing an sich abzulösen. Eine deutliche Fluktuation war nie nachweisbar. Die Inzisionswunde am Vorderarm granulierte fast völlig zu.

Der Allgemeinzustand wurde langsam schlechter. Zyanose und Dyspnoe nahmen zu. Die Unterschenkel wurden etwas ödematös, und im Abdomen ließ sich Aszites nachweisen.

Urinmenge zwischen 800 und 1100 ccm. Der Eiweißgehalt nahm zu, und im Sediment fanden sich neben den Zylindern und Leukozyten noch rote Blutkörperchen.

Die Temperatur war während der ganzen Zeit fast immer unter 37°, nur am zweiten und am vorletzten Tage stieg sie auf 37·8°.

Die Therapie bestand in Digalen und Strophantus, sowie in lokalen Alkoholumschlägen.

Exitus am 12. August, 6 Uhr morgens.

Klinische Diagnose: Phlegmone am rechten Vorderarm. Gangrän der Haut über dem rechten Schulterblatt. Nephritis chronica.

Die Sektion (Nr. 477/1911), $3^1/_2$ Stunden nach dem Tode ausgeführt, ergab folgendes:

Sektionsprotokoll: Großer, männlicher Körper, Gewicht 99 kg, von sehr gutem Ernährungszustande. Totenstarre noch nicht eingetreten. Livores spärlich am Rücken, dunkel. Pupillen mittelweit, beidseits gleich, rund. Zähne gut erhalten.

Über dem rechten Schulterblatte findet sich ein 20 × 10 cm messender Herd, in dessen Bereiche die Haut schwarz und bröcklig ist. Darunter und in der weiteren Umgebung ist das Gewebe mit graugelbem ziemlich dünnflüssigem Eiter durchsetzt, die Muskulatur morsch bis auf die Rippen. In der Lendengegend besteht starkes Ödem. Um die Knöchel fast keine Ödeme. Am rechten Vorderarm außer einer kleinen, fast völlig geheilten Inzisionswunde keine Veränderung.

Subkutanes Fett an Brust und Bauch sehr reichlich, hell, bis 6 cm dick. Brustmuskulatur rechts von Eiter durchsetzt, voller Höhlen und Gänge, morsch; diese Phlegmone kommuniziert breit mit derjenigen am Rücken. Brustmuskulatur links kräftig, dunkelrot, gut transparent.

Zwerchfellstand rechts 5. Rippe, links 5. Interkostalraum. Leber in der Mittellinie 12 cm unter dem Ende des Corpus sterni, in der rechten Mamillarlinie 5 cm unter dem Rippenbogen. Omentum maius kurz, fettreich. Magen in normaler Lage, mäßig gefüllt, ziemlich kontrahiert. Dünn- und Dickdärme eng; Serosa glatt und glänzend, ohne Verwachsungen. Appendices epiploicae und Mesenterium sehr fettreich. Im Abdomen 2 Liter einer weißlichen, trüben Flüssigkeit. Appendix frei. Harnblase wenig gefüllt, gut kontrahiert.



Rippenknorpel im Centrum leicht verkalkt. Sternum ohne Besonderheiten.

Lungen nicht retrahiert, wenig kollabiert. Linke Lunge mit einer bandförmigen Adhäsion am Unterlappen; rechts im Bereiche des Unterlappens ausgedehnte Adhärenzen. Pleurahöhle beiderseits leer. Ductus thoracicus zart.

Perikard von der Lunge ausgedehnt bedeckt, darin etwa 30 ^{ccm} klare bernsteingelbe Flüssigkeit. Perikard und Epikard glatt und glänzend.

Herz (410 ^{grm}) nach rechts etwas vergrößert, links sehr stark, rechts gut kontrahiert. Venöse Ostien für zwei Finger gut durchgängig, arterielle Klappen suffizient. Mitralis mit geringer Verdickung des freien Randes. Aortenklappen zart. Trikuspidalis und Pulmonalis zart. Linker Vorhof und Ventrikel nicht erweitert, Trabekel und Papillarmuskeln kräftig, Endokard zart. Rechter Vorhof und Ventrikel mäßig dilatiert, Trabekel und Papillarmuskeln abgeplattet, Endokard zart. Aorta 7 ^{cm} weit, Intima über dem Sinus Valsalvae leicht verdickt und getrübt, sonst zart. Pulmonalis zart. Wanddicke links 12 bis 13, rechts 3 bis 4 ^{mm}. Myokard mit ganz vereinzelten kleinsten Schwielen, rotbraun, gut transparent. Foramen ovale geschlossen. Koronargefäße mit geringen Verdickungen und Trübungen der Intima.

Zunge ohne Belag, Balgdrüsen und Tonsillen kräftig. Uvula, weicher Gaumen und Pharynx zyanotisch. Ösophagus mit starker postmortaler Mazeration. Larynx und Trachea normal. Thyreoidea rechts 8 × 4 × 4, links 4 × 3 × 3 ^{cm} groß, mit einem verkalkten Knoten von 1 ^{cm} Durchmesser im Unterhorn.

Linke Lunge groß, Pleura glatt und glänzend. Luftgehalt überall gleichmäßig herabgesetzt; am Rande deutliche Emphysemzeichnung. Auf Schnitt läßt sich überall klarer, stark blutiger, wenig schaumiger Saft in großen Mengen abstreichen. Gewebe nach Abstreifen glatt und glänzend, dunkelrot, überall völlig kompressibel. Bronchi etwas zylindrisch erweitert, mit blutigem Schaum; Schleimhaut etwas hyperämisch. Lungengefäße zart. Bronchialdrüsen klein, anthrakotisch. Rechte Lunge wie links.

Milz ziemlich groß (330 ^{grm}), mit der Umgebung leicht verwachsen, Kapsel an den adhärenten Stellen leicht verdickt, sonst zart. Auf Schnitt Pulpa braunrot, nicht vorquellend, von normaler Konsistenz. Follikel klein, deutlich. Trabekel deutlich, kaum verbreitert.

Linke Nebenniere kräftig, Rinde gut fetthaltig, Mark breit.

Linke Niere mit starker Fettkapsel. Fibröse Kapsel verdickt, ordentlich abziehbar. Niere mäßig verkleinert (Gewicht beider Nieren 270 ^{grm}), Oberfläche feinhöckerig, blaß, leicht trüb mit zerstreuten punktförmigen Blutungen. Auf Schnitt Rinde 5 ^{mm} breit mit denselben punktförmigen Blutungen in geringer Zahl. Gewebe blaß, stellenweise trüb. Markpyramiden gut transparent, von gutem Blutgehalt. Brüchigkeit vermindert. Nierenbecken ohne Besonderheiten.

Rechte Nebenniere und Niere wie links.

Vena cava inferior mit flüssigem Blut.

Magen mit wenig braunem Inhalt, Duodenum mit galligem Inhalt. Schleimhaut auf der Höhe der Falten mit zahllosen, kleinsten, schwarzen Pünktchen. Ductus choledochus nicht durchgängig bei Druck auf die Gallenblase.



Leber groß (1700 grm), Oberfläche mit 1—2—3 mm messenden Höckern. Auf Schnitt ist das Gewebe derb, etwas ikterisch, stellenweise leicht getrübt. Die Fläche besteht aus 1 bis 3 mm messenden etwas prominenten Bezirken, die durch eingesunkene etwa $^1/_2$ mm breite Septen getrennt sind. Gallenblase mit wenig zäher schleimiger Galle, Wand ohne Besonderheiten.

Dünndarm mit schwarzem, dickflüssigem Inhalt, Schleimhaut auf den Falten mit zahllosen kleinsten schwarzen Punkten. Follikuläre Apparate nicht geschwellt.

Dickdarm mit dem gleichen Inhalt, Schleimhaut ohne Besonderheiten.

Harnblase mit wenig trübem, etwas dunklem Urin, Wand mit leichter trabekulärer Hyperplasie. Prostata kräftig.

Samenblasen, Hoden und Nebenhoden ohne Besonderheiten.

Aorta abdominalis 4 cm weit, Intima mit ganz geringer Verdickung und Trübung. Mesenterialgefäße zart.

Mesenterial- und Retroperitonealdrüsen nicht vergrößert.

Pankreas etwas klein, auf Schnitt braun. In den Beinvenen flüssiges Blut. Beinarterien zart.

Schädeldach groß, symmetrisch, ohne Besonderheiten. Diploë reichlich, blutreich. Innenfläche der Dura glatt. Weiche Häute an Basis und Konvexität getrübt. Liquor klar, etwas vermehrt. Basale Gefäße zart. Gyri im Stirnhirn verschmälert. Fossae Sylvii ohne Besonderheiten. Ventrikel etwas erweitert, Liquor vermehrt, klar, Ependym zart. Plexus chorioidei gut bluthaltig. Hirnsubstanz gut durchfeuchtet, ohne Besonderheiten.

Die mikroskopische Untersuchung der Organe ergab folgendes:

Nieren: Die Glomeruli sind meist intakt, einige sind ganz oder teilweise hyalin. Die Glomeruluskapseln sind meist verdickt, manchmal ziemlich stark. Zahlreiche Tubuli contorti und recti enthalten granulierte Zylinder und rote Blutkörperchen. Das Bindegewebe zwischen den Tubulis ist durchwegs vermehrt. In der Rinde liegen zerstreut zahlreiche Herde von Lymphozyten. Die Gefäße zeigen außer geringer Verdickung der Intima keine Besonderheiten. Pigment ist nirgends vorhanden. Bei Sudanfärbung weisen die Epithelien in Rinde und Mark eine mäßige Menge kleiner und mittelgroßer Fetttropfen auf.

Leber: Breite Züge von fibrillärem Bindegewebe, stark mit Lymphozyten infiltriert, teilen das Parenchym in unregelmäßige größere und kleinere Inseln. Die Leberzellen sind überall stark mit körnigem, gelbbraunem Pigment beladen; stellenweise enthalten sie große Fetttropfen. In den Bindegewebszügen finden sich neugebildete Gallengänge und ziemlich reichlich intra- und extrazellulär gelagertes Pigment.

Milz: Die Kapsel ist etwas verdickt und besteht aus kernarmem Bindegewebe mit reichlich gelbbraunem, körnigem Pigment. Die Pulpa ist mäßig blutreich und enthält Häufchen desselben Pigments. Follikel klein, meist ohne Pigment.

Pankreas: Die Drüsenläppchen enthalten viel körniges Pigment, besonders in den feinen Bindegewebszügen. Das Bindegewebe ist etwas vermehrt, kernarm, fibrillär. Die Langerhansschen Inseln sind zahlreich, von kräftigen Bindegewebszügen umgeben. An den Zellen sind keine Veränderungen nachzuweisen.



Anatomische Diagnose: Phlegmone der rechten Skapular- und Pektoralgegend. Genuine Schrumpfniere. Pigmentzirrhose der Leber. Allgemeine Hämochromatose. Darmblutung. Chronischer Milztumor. Chronisches substanzielles Lungenemphysem. Hypostase und Ödem der Lungen. Zylindrische Bronchiektasen. Leptomeningitis chronica fibrosa. Hydrocephalus externus et internus.

Zur bakteriologischen Untersuchung kamen Abstriche aus dem Eiter der Phlegmone und je eine Agar- und Bouillonkultur aus der Tiefe der Phlegmone und aus dem Herzblut. Ich schicke voraus, daß in sämtlichen Abstrichen und Kulturen der unten beschriebene Mikroorganismus allein gefunden wurde. In den Abstrichen und dem Agarröhrchen aus der Phlegmone war er außerordentlich reichlich, im Agarröhrchen, das mit einigen Tropfen Herzblut beschickt war, wuchsen wenige Kolonien.

Mikroskopisches Aussehen: Zwei Abstrichpräparate aus dem Eiter der Phlegmone, mit Methylenblau und nach Gram gefärbt, zeigen massenhaft Gram-positive Kokken. Diese sind sozusagen immer in regelmäßigen Tetraden beisammenliegend und in der Größe ziemlich variabel. Die kleinsten Kokken sind rund, die größeren oder schon deutlich eingekerbt, in Teilung begriffen. Sehr oft sieht man auch bei allerstärkster Vergrößerung, daß eine anscheinende Vierergruppe schon aus 4×4 Kokken besteht. Schon in diesen (etwas dicken!) Ausstrichen sieht man aber öfters neben den Tetraden mehr oder weniger zerdrückte Würfel und größere Pakete aus 4 bis 8 Würfeln. Viel seltener sieht man an Stelle der Tetraden einmal nur Diplokokken: diese sind dann meist schon deutlich abgeflacht oder in Teilung begriffen. Unregelmäßige nach Art der Staphylokokken gelagerte Formen finden sich nirgends, ebensowenig Ketten oder größere regelmäßige Tafeln.

Das Grampräparat, mit Vesuvin nachgefärbt, zeigt um die Tetraden, Würfel und Diplokokken eine deutliche Kapsel; im Methylenblaupräparate ist diese ungefärbt, aber scharf begrenzt. (Näheres über die Kapsel siehe unten.)

Zwischen diesen Kokken finden sich reichliche, mehr oder weniger gut erhaltene Leukozyten, daneben Lymphozyten oder Plasmazellen und große mononukleäre Zellen. Bilder von Phagozytose fand ich in den Leukozyten nirgends.

Später angefertigte Abstrichpräparate vom Tiere zeigen wenig Neues. Wir finden überall dieselbe regelmäßige Anordnung, in dünnen Ausstrichen fast nur Tetraden, in dickeren oft Würfel und Pakete, daneben sehr seltene Diplokokken oder einzelne Kokken.

Eine Kapsel ist bei Färbung nach Gram und Nachfärben mit Bismarckbraun, Fuchsin oder Eosin meist in der Weise deutlich, daß die einzelnen Tetraden von einem sehr schwach gefärbten Hofe umgeben sind, der nicht immer scharf abgegrenzt ist. Sehr schön ist die Kapsel hingegen mit der Johnschen Kapselfärbung darzustellen. Hier sieht man um einzeln liegende Tetraden einen schwach violett gefärbten großen rundlichen Hof, der von einem scharfen, stärker gefärbten Saum umgeben ist. Nahe beisammen liegende Gruppen hingegen sind von einer gemeinsamen violett gefärbten Masse umgeben, in der die einzelnen Höfe meist durch dunklere Linien ab-



gegrenzt erscheinen. Zwischen solchen Gruppen und zwischen einzelnen Tetraden ziehen sich oft schleimartige mehr oder weniger intensiv gefärbte Fäden hin. Bei Methylenblaufärbung hebt sich die Kapsel als scharf begrenzter heller Hof vom gefärbten Grunde ab, und auch bei Färbung nach Giemsa wird sie als heller Hof mit leicht gefärbtem, scharfem Saume deutlich. In Organschnitten mit Hämalaun-Eosinfärbung endlich ist die Kapsel als heller Hof auf eosingefärbtem Grunde zu sehen.

In Kulturen ist sowohl die Wuchsform als die Kapselbildung genau gleich wie im Tierkörper. Im hängenden Tropfen aus Bouillonkulturen finden wir neben den Tetraden ziemlich viele Würfel und kleine aber regelmäßige Pakete. In gefärbten Präparaten aus Agar- und Bouillonkulturen ist nie eine unregelmäßige Lagerung nach Art von Staphylokokken zu bemerken. Die Kapsel läßt sich besonders an Präparaten aus Agarkulturen sehr schön färben, und zwar finden wir hier wieder die auffallend starke, schleimartige Masse, welche nahegelegene Tetraden zusammenhält. In Trockenpräparaten aus Bouillon sieht man hingegen mit der Johnschen Färbung nur eine schmale unregelmäßig begrenzte Masse, von der aus feine Fäden die einzelnen Tetraden verbinden.

Diese Merkmale, die Lagerung und die Kapselbildung sind etwa zwei Monate lang völlig gleich geblieben, nach ziemlich häufigem Überimpfen, ebenso fanden sie sich in den frischen Kulturen nach Tierpassage wieder.

Eine Bewegung konnte ich in hängenden Tropfen nie beobachten, ebensowenig ließen sich (nach Zettnow) Geißeln darstellen.

Die Kulturen zeigen folgende Eigenschaften:

Agarplatte: Bei 36° finden sich nach 24 Stunden etwa 2 mm große genau runde Kolonien an der Oberfläche. Diese sind ziemlich stark erhaben, rein weiß, porzellanartig glänzend, und zeigen sich beim Wegnehmen mit der Öse, sehr zäh, fadenziehend und feucht. Bei schwacher Vergrößerung sind sie feingekörnt, am Rande mit einzelliegenden Körnern. Bei starker Vergrößerung lassen sich besonders am Rande diese Körner als Tetraden oder Würfel erkennen, welche einzeln oder in Gruppen von zwei bis drei liegen und von der Umgebung durch einen weiten Zwischenraum getrennt sind.

Nach 2 bis 3 Tagen erreichen die Kolonien ihre definitive Größe von etwa 4 mm. Makroskopisch zeigen sie noch dieselben Eigenschaften und die gleiche Farbe; bei schwacher Vergrößerung findet man aber oft eine radiäre Streifung und manchmal geringe Lappenbildung am Rande. In der Mitte ist die Kolonie schon für schwache Vergrößerung undurchsichtig, graugelb, die Körnelung ist nur noch am Rande deutlich, und auch dort lassen sich nicht immer mehr die einzelnen Tetraden erkennen.

Tiefliegende Kolonien sind meist unregelmäßig, sternförmig mit wenigen groben Zacken.

Agarstrich: Üppig wachsend, unten ziemlich viel breiter als oben, rein weiß, dick, feucht, sehr klebrig. Das Kondenswasser enthält einen starken Satz oder wird völlig von einer schleimigen weißen Masse erfüllt.

Agarstich: Dick wachsend, oben sehr stark und grob, unten feiner gekörnt. Die oberen Körner gleichen nach einigen Tagen fast kleinen Ästchen. Auflage gelappt, wenig erhaben, bis etwa 8 mm groß. Farbe rein weiß.



Glyzerinagar: Wachstum spurweise schwächer, sonst gleich wie auf Agar.

Gelatineplatte: Bei 22° lassen sich erst nach etwa 48 Stunden an der Oberfläche feinste weiße Pünktchen makroskopisch erkennen. Bei schwacher Vergrößerung sind diese völlig rund, ziemlich undurchsichtig, am Rande in einzelne Körner aufgelöst. Bei starker Vergrößerung sind die einzelnen Tetraden weniger deutlich getrennt als auf der Agarplatte.

Nach 3 Tagen etwa $^1/_2$ mm große, runde, für das Mikroskop ziemlich undurchsichtige Kolonien, oberflächliche und tiefe gleich.

Nach 5 bis 8 Tagen wachsen die Kulturen zu etwa 2 mm großen, genau runden, fast halbkugelförmig erhabenen Kolonien aus. Sie bleiben rein weiß, saftig, zäh. Für schwache Vergrößerung sind sie kaum durchsichtig und völlig homogen. Einzelne Tetraden lassen sich nicht mehr erkennen. Die Kolonien sind unmerklich eingesunken, doch besteht keine Spur von Verflüssigung. Tiefe Kolonien sind etwas kleiner, ebenfalls rund.

Gelatinestich: Leicht gekörnt, breit. Auflage rund oder gelappt, von 4 bis 5 mm Durchmesser, leicht erhaben. Nach 14 Tagen keine Spur Verflüssigung.

Kartoffel: Wachstum sehr verschieden, manchmal fast so üppig wie auf Agar, porzellanartig glänzend; doch konfluieren die einzelnen Kolonien weniger. Meist sehr geringes, trockenes Wachstum. Farbe immer rein weiß.

Glyzerinkartoffel: Geringes, trockenes, weißes Wachstum.

Bouillon: Bei 36° ist die Kuppe nach 24 Stunden mit dickem, weißem Satz fast völlig angefüllt; dieser ist zähschleimig und läßt sich schwer aufschütteln oder mit der Nadel zerteilen. Die obenstehende Flüssigkeit ist immer ganz leicht getrübt, mit feinsten Flöckchen, ähnlich einer agglutinierten Typhuskultur. Auch bei ganz ruhigem Stehen sah ich sie nie völlig klar gesehen, wie für Tetragenus meist angegeben wird; zu einer gleichmäßigen starken Trübung wie beim Staphylococcus kommt es allerdings nicht.

Nach wenigen Tagen ist das Wachstum kaum stärker.

Reaktion der Bouillon nach 8 Tagen unverändert.

Traubenzuckerbouillon: Starkes Depot, klar. Nach 8 Tagen leicht sauer.

Traubenzuckerlackmusmolke: Nach einigen Tagen leicht gerötet.

Milchzuckerlackmusmolke: Nach 14 Tagen unverändert.

Trauben- und Milchzuckeragar: In Schüttelkultur gutes Wachstum, keine Gasbildung.

Milch: Nach 14 Tagen unverändert in Farbe und Reaktion.

Indolreaktion: In 10 Tage alter Bouillon keine Spur.

Bleizuckeragar: Kein H_2S.

Hämolyse: Auf Agar, mit Meerschweinchenblut bestrichen, kein heller Hof um die Kolonien; in Bouillon, welche einige Tropfen Meerschweinchenblut enthält, keine oder sehr schwache Hämolyse.

Bei Zimmertemperatur ist das Wachstum auf allen Nährböden viel schwächer.

Zur Prüfung der Virulenz bei Tieren wurden die nachfolgenden Versuche mit Kaninchen, Meerschweinchen, weißen Ratten und weißen Mäusen unternommen, und zwar teils mit den ersten, aus dem Menschen



stammenden Kulturen, teils etwa zwei Monate später, wie aus den Protokollen zu sehen ist. Ein Unterschied in der Virulenz wurde dabei nicht bemerkt.

Versuchsprotokolle: (Die Tiere wurden, wenn nichts anderes bemerkt wird, mit 24 stündigen Agarkulturen oder Aufschwemmungen solcher in physiologischer Kochsalzlösung geimpft. Die Hautwunden wurden meist offen gelassen. Sämtliche Kulturen aus dem Herzblut und den Organen wurden doppelt, d. h. auf Agar und Bouillon angelegt und nach 1 bis 2 Tagen auf Reinheit geprüft,).

14. VIII. Kaninchen 58 (etwa 1·5 kg). Subkutan geimpft mit einer Öse 48 stündiger Agarkultur, direkt vom Menschen.

Nach einigen Tagen völlige Heilung der Wunde. Anscheinend keine Störung des Allgemeinbefindens.

14. VIII. Kaninchen 11 (1·5 kg). $^1/_{100}$ Öse 48 stündiger Agarkultur. direkt vom Menschen intravenös injiziert.

Keine nachweisbare Erkrankung.

11. X. Kaninchen 12 (1900 grm). $^1/_{10}$ Öse intraperitoneal.

Keine Zeichen von Erkrankung.

21. X. Kaninchen 24 (1·5 kg). 48 stündige Bouillonkultur aus Meerschweinchen Nr. 31 2 ccm intravenös.

25. X. Keine Erkrankung.

31. X. Anscheinend gesund getötet. Die Sektion ergibt keinen pathologischen Befund. Kulturen aus dem Herzblut steril.

21. X. Kaninchen 40 (1·5 kg). 12 tägige Bouillonkultur 2 ccm intravenös.

28. X. Immer munter, keine Erkrankung.

31. X. Anscheinend gesund getötet. Die Sektion ergibt keinen pathologischen Befund. Kulturen aus dem Herzblute steril.

14. VIII. Meerschweinchen 9 (etwa 300 grm). $^1/_{10}$ Öse intraperitoneal.

21. VIII. Tot. Stark abgemagert.

Sektion: Peritoneum erfüllt mit reichlich grauweißer, schleimiger, transparenter Flüssigkeit. Peritoneum parietale und viscerale leicht injiziert. Leber stark weiß belegt, auf Schnitt ohne Besonderheiten. Milz kaum vergrößert, weiß belegt. Nieren: in den Markpyramiden reichliche kaum sichtbare Abszesse, sonst nichts Anormales. Lungen: Stellenweise stark hyperämisch. nirgends deutlich pneumonisch, Pleura glatt glänzend. Herz ohne Besonderheiten.

Abstriche vom Peritoneum zeigen reichliche Sarzinen, dazwischen wenige Leukozyten. Keine anderen Bakterien.

Impfung vom Peritoneum und vom Herzblut ergibt sehr reichliche Sarzinen in Reinkultur.

Mikroskopische Untersuchung:

Nieren: Glomeruli stark mit Sarzinen angefüllt, sonst nicht verändert. Im Mark reichliche, in der Rinde vereinzelte, kleine Abszesse mit zentraler Nekrose und starker Leukozyteninfiltration. In den Abszessen reichlich Sarzinen. Sonst außer einigen hyalinen Zylindern nichts Abnormes. Keine Verfettung.



Leber: Starke diffuse Verfettung in großen Tropfen, sonst nichts Besonderes. In den Gefäßen Sarzinen.

Milz: Mit Sarzinen sehr stark angefüllt, sonst außer Hyperämie nichts Besonderes.

Lungen: Außer etwas Hyperämie normale Verhältnisse. In den Gefäßen reichlich Sarzinen.

23. VIII. Meerschweinchen 98 (etwa 300 ^{grm}). $^1/_{20}$ Öse intraperitoneal.

1. IX. Abgemagert, etwas Durchfall.

5. IX. Tot. Subkutan ein etwa 1·5 ^{cm} großer Abszeß mit stark eingedicktem gelbweißem Eiter an der Injektionsstelle. Peritoneum mit stark schleimiger, kaum eitriger Flüssigkeit. Serosa wenig injiziert. Organe ohne Besonderheiten.

Abstriche des subkutanen Abszesses zeigen reichlich Leukozyten und Sarzinen. Solche vom Peritoneum enthalten sehr reichlich Sarzinen und wenige Leukozyten. Keine anderen Bakterien nachweisbar.

Kulturen vom Peritoneum und vom Herzblut völlig rein.

11. X. Meerschweinchen 58 (etwa 400 ^{grm}). $^1/_{100}$ Öse intraperitoneal.

19. X. Tot.

Sektion: Abmagerung. Peritoneum glatt, glänzend, nur um die Milz finden sich leichte, weiße Beläge. Peritoneum viscerale über dem Coecum injiziert. Coecum stark gebläht mit dünnflüssigem, stark blutigem Inhalt. Schleimhaut dunkelrot mit diffusen Blutungen. Plaques vergrößert. Weiter unten noch etwas dickerer Inhalt, Schleimhaut ohne Besonderheiten. Dünndarm ohne Besonderheiten. Nieren hyperämisch, im Nierenbecken etwas trübe, weiße Flüssigkeit. Milz nicht vergrößert. Leber, Herz, Lungen und Pleura ohne Besonderheiten. Drüsen überall geschwellt und injiziert.

Bakteriologisch: In Abstrichen des Herzblutes reichliche Sarzinen. In Kulturen vom Herzblut reichliche, in solchen vom Peritoneum spärliche Sarzinen; nirgends andere Bakterien. Die Flüssigkeit im Nierenbecken enthält reichliche Sarzinen und Epithelien, keine Leukozyten, keine anderen Bakterien. Im Inhalte des Dickdarms sehr reichliche Sarzinen neben anderen Bakterien.

Mikroskopische Untersuchung:

Nieren: Glomeruli meist stark hyperämisch, darin reichliche Sarzinen. Kapselepithelien zum Teil auffallend hoch, aber nicht deutlich gewuchert; keine abnorme Leukozytenansammlung. Mark ziemlich stark hyperämisch. Tubuli im allgemeinen intakt bis auf einige sehr kleine zirkumskripte Abszesse. Keine Verfettung.

Leber: Leichte Hyperämie und ziemlich starke diffuse Verfettung in großen Tropfen. Keine Abszesse oder Nekrosen. Bei Immersion sieht man reichliche Sarzinen, meist frei in den Gefäßen, teilweise in Zellen, anscheinend Kupfferschen Sternzellen.

23. VIII. Meerschweinchen 51 (etwa 300 ^{grm}). $^1/_{100}$ Öse intraperitoneal.

4. IX. Tot. Stark abgemagert.

Sektion: Peritoneum meist glatt, glänzend. Därme eng. Um die Milz und unter der Leber etwas eitriger Belag. Milz vergrößert, blaß. Leber und Nieren ohne Besonderheiten. Pleura mit reichlich schleimig-eitrigem



Exsudat beiderseits. Lungen etwas komprimiert, eitrig belegt, wenig lufthaltig. Herz ohne Besonderheiten.

Ausstriche vom Eiter der Pleura zeigen sehr reichlich Sarzinen und Leukozyten. (Kulturen wurden nicht angelegt, da das Tier nicht mehr frisch.)

Mikroskopische Untersuchung:

Niere: Im Mark einige kleinste zirkumskripte Leukozyteninfiltrationen. Sonst außer starker Hyperämie nichts Besonderes.

Leber: Die eine Fläche mit Leukozyten belegt, dazwischen reichlich Sarzinen. An einer Stelle greift ein Abszeß durch die Kapsel ins Lebergewebe. Das Gewebe ist dort nekrotisch, an der Grenze ein starker Leukozytenwall. Im übrigen besteht in der Leber starke Hyperämie und ziemlich diffuse Verfettung in großen Tropfen. Im Innern keine Abszesse oder Nekrosen.

Milz: Außer etwas Hyperämie ohne Besonderheiten.

Lunge: Pleura mit gewucherten Epithelien und Leukozyten belegt. Nirgends deutliches Fibrin. Reichlich Sarzinen. Im Innern besteht größtenteils Atelektase, keine Entzündung.

11. X. Meerschweinchen 2 (350 grm). 1 Öse subkutan.

19. X. Moribund getötet, sofort seziert.

Sektion: Starke Abmagerung. Subkutaner Abszeß mit dickem, gelbweißem Eiter über dem Sternum und den Rippen in einer Ausdehnung von etwa 3 × 4 cm. Peritoneum glatt, glänzend, am Dickdarm etwas hyperämisch. Oberer Dickdarm stark gebläht mit reichlich gelbbraunem dünnflüssigem Inhalt, Plaques geschwellt, Schleimhaut ohne Blutung. Milz nicht vergrößert. Alle Organe unverändert. Pleura glatt, glänzend.

Bakteriologisch: Ausstriche vom Herzblut zeigen ziemlich reichliche Sarzinen, im Abszeß sehr viele Sarzinen und Leukozyten, nirgends andere Bakterien. Im Herzblut Sarzinen in Reinkultur. Der Darminhalt enthält massenhaft Sarzinen neben vielen anderen Formen.

Mikroskopische Untersuchung:

Nieren: Glomeruli zum Teil mit Sarzinen überschwemmt, sonst keine Veränderung, nicht einmal Hyperämie. Nur um einen Glomerulus besteht ein kleinster Abszeß mit Leukozyten und geringem Zellzerfall. Im Mark keine Abszesse. Epithelien überall gut erhalten, ohne Verfettung.

Leber: Außer sehr leichter diffuser Verfettung in kleinen Tropfen keine Besonderheiten, keine Hyperämie.

Milz: Keine Veränderung, mit Hämalaun-Eosinfärbung keine Sarzinen nachweisbar.

23. VIII. Meerschweinchen 59 (300 grm). 1 Öse subkutan.

6. IX. Tot.

Sektion: 2 cm großer, offener Abszeß mit sehr dickem, gelbweißem Eiter an der Injektionsstelle über dem Sternum. Peritoneum leicht schleimig belegt und injiziert. Dickdarm sehr weit mit etwas dünnem Inhalt. Nieren, am Rande der Markpyramiden starke grauweiße Trübungen. Milz leicht vergrößert. Leber, Herz, Lungen und Pleura ohne Besonderheiten.

Ausstriche des Abszesses zeigen reichliche Sarzinen und stark zerfallene Zellen.



Bouillonkultur aus Herzblut enthält nur bewegliche fadenbildende Stäbchen, keine Sarzinen.

Mikroskopische Untersuchung:

Niere: Glomeruli intakt, aber mit Sarzinen angefüllt. Tubuli contorti bei Hämalaun-Eosinfärbung ohne Besonderheiten. Mark mit mehreren runden oder streifenförmigen radiär verlaufenden Abszessen, darin zerfallende Zellen, Leukozyten und Sarzinen. Keine auffallende Hyperämie. Sudanfärbung zeigt überall gleichmäßig starke Verfettung der Epithelien.

Leber: Sehr starke zentrale Verfettung in allen Acinis, sonst normale Verhältnisse.

23. VIII. Meerschweinchen 40 (etwa 250 ^{grm}). 1 Öse subkutan.

7. IX. Etwa 1 ^{cm} großer, offener Abszeß. Etwas abgemagert, aber lebhaft.

15. IX. Tot.

Sektion: Außer reichlich schleimiger Flüssigkeit im Peritoneum keine Veränderungen.

14. VIII. Meerschweinchen 28 (etwa 300 ^{grm}). 1 Öse subkutan geimpft.

21. VIII. Abszeß etwa 0·5 ^{cm} weit offen mit rahmigem Eiter, in der Umgebung etwa 2 × 3 ^{cm} breite starre Infiltration.

7. IX. Wunde vernarbt.

9. X. Gesund.

11. X. Meerschweinchen 10 (etwa 400 ^{grm}). $^1/_{10}$ Öse subkutan.

22. X. War eine Zeitlang sehr matt, jetzt etwas abgemagert, aber munter. An der Injektionsstelle eine wenig infiltrierte Narbe mit trockener Borke.

31. X. Gesund.

11. X. Meerschweinchen 31 (etwa 400 ^{grm}). $^1/_{10}$ Öse subkutan.

19. X. Tot.

Sektion: Stark abgemagert. Über Sternum und Rippen ein etwa 2 ^{cm} haltender offener Abzeß mit dickem, gelbem Eiter. Peritoneum glatt, glänzend. Coecum stark gebläht, Serosa injiziert. Darminhalt dünnflüssig, stark blutig. Schleimhaut dunkelrot geschwellt, Plaques vergrößert. Weiter unten noch etwas geformter Stuhl. Dünndarm eng, ohne Besonderheiten. Nieren hyperämisch. Milz nicht vergrößert; die übrigen Organe ohne Besonderheiten.

Bakteriologisch: Abstriche vom Abszeß zeigen reichliche Sarzinen und Leukozyten, keine anderen Bakterien. Kulturen vom Herzblut zeigen die Sarzinen in Reinkultur. Abstriche vom Darminhalt zeigen sehr reichliche Sarzinen neben anderen Bakterien.

Mikroskopische Untersuchung:

Niere: Glomeruli sehr stark hyperämisch aber wenig mit Sarzinen überschwemmt. Sonst Rinde mäßig, Mark stark hyperämisch. Tubuli gut erhalten, ohne Verfettung. Nirgends Abszesse.

Leber: Leichte Hyperämie und Verfettung. Glissonsche Scheiden auffallend breit, zum Teil mit Lymphozyten, zum Teil mit Leukozyten infiltriert; auch sonst finden sich in den Gefäßen auffallend viele Leukozyten und ziemlich viele Sarzinen. Keine eigentlichen Abszesse, keine Nekrosen.



11. X. Maus 1. $^1/_{10}$ Öse subkutan.
22. X. War einige Tage sehr matt, jetzt anscheinend gesund.

11. X. Maus 2. $^1/_{20}$ Öse subkutan.
15. X. Tot.
16. X. Sektion. Innere Organe ohne Befund, nur die Muskulatur des Oberschenkels, wo eingespritzt war, von sehr dicker, zäher, grauweißer, eiterähnlicher Flüssigkeit durchsetzt.

Mikroskopisch erweist sich die Flüssigkeit als frei von Zellen und enthält nur äußerst reichliche Sarzinen mit dicken, mit Vesuvin färbbaren Schleimkapseln.

Bakteriologisch: Kulturen aus Herzblut zeigen Sarzinen und kurze, leicht bewegliche Stäbchen. (Maus bei der Sektion nicht mehr ganz frisch!)

Die mikroskopische Untersuchung einer Niere zeigt außer Hyperämie nichts Besonderes. Keine Verfettung.

11. X. Maus 3. $^1/_{100}$ Öse subkutan.
22. X. War etwa 8 Tage sehr matt, jetzt anscheinend gesund.

11. X. Maus 4. $^1/_{200}$ Öse intraperitoneal.
17. X. Tot.

Sektion: Peritoneum glatt, glänzend. Milz stark vergrößert, derb, Kapsel etwas weißlich, glatt, glänzend. Leber und Nieren etwas hyperämisch. Darm nicht hyperämisch. Lungen und übrige Organe ohne Besonderheiten.

Bakteriologisch: Frischer Ausstrich vom Herzblut zeigt reichliche Sarzinen, keine anderen Bakterien. Kulturen vom Herzblut ergeben Sarzinen rein.

11. X. Ratte 1. $^1/_{10}$ Öse subkutan.
25. X. Tot.

Sektion: Peritoneum parietale und viscerale fest verklebt, zwischen einigen Darmschlingen dicker Eiter, zwischen anderen fast nur Schleim. Därme stark injiziert mit reichlich dünnem Inhalt. Pleura und Perikard mit schleimigem Inhalt, wenig injiziert. Die Organe sonst makroskopisch ohne Befund. Keine Eiterung an der Injektionsstelle.

Bakteriologisch: Abstriche aus Peritoneum und Pleura zeigen reichliche Sarzinen ohne andere Bakterien. Kulturen aus dem Peritoneum zeigen Sarzinen rein, solche aus dem Herzblute verunreinigt mit beweglichen Stäbchen.

11. X. Ratte 2. $^1/_{10}$ Öse intraperitoneal.
25. X. Anscheinend gesund.

Wir fanden also im Eiter einer langsam fortschreitenden Phlegmone als einzigen Mikroorganismus einen Coccus, den wir nach den oben beschriebenen Merkmalen als Sarcina tetragena ansprechen. Im folgenden möchten wir zunächst die Berechtigung dieser bakteriologischen Diagnose diskutieren und dann auf den pathologisch anatomischen Befund beim Menschen und bei den infizierten Tieren näher eingehen, sowie auf die Frage, ob wir den besprochenen Mikroorganismus als Erreger der Krankheit ansehen können.



Die Diagnose auf Sarcina tetragena stützt sich zunächst auf das morphologische, dann auf das kulturelle Verhalten. Die Form ist insofern für den „Micrococcus tetragenus" der älteren Autoren typisch als wir im gefärbten Präparate aus dem Menschen- und Tierkörper fast immer Tetraden aus grampositiven Kokken mit deutlichen Kapseln vor uns haben. Unregelmäßige Wuchsformen haben wir nie beobachtet. Etwas atypisch sind nun die Tatsachen, daß wir sehr häufig Würfel und Paketbildung beobachten konnten, und zwar schon im Tierkörper, ferner, daß die Kapselbildung sehr stark ist und sich auch in den Kulturen erhält.

In bezug auf die Würfelbildung ist nun zu sagen, daß sie in flüssigen Nährböden schon längst von Migula, sowie von Lehmann und Neumann beobachtet wurde, welche Autoren den Mikroorganismus daher als Sarcina benennen. Sie anerkennen Übergänge gegen das Flächenwachstum der Mikrokokken. In unserem Falle hätten wir es nun mit einem Tetragenus zu tun, der sich durch besonders regelmäßige Teilung in drei Richtungen auszeichnet. Übrigens muß ich bemerken, daß eine Würfelbildung in den gefärbten Präparaten nur unter gewissen Bedingungen sichtbar ist. Besonders deutlich ist sie an etwas dicken Ausstrichen und an Grampräparaten, welche nicht allzustark differenziert sind. Die Kokken haben dann eine solche Größe, daß die Würfel sich beim Spielen mit der Mikrometerschraube als dreidimensional abheben. Mit Methylenblaufärbung erkennt man in Abstrichen desselben Eiters meist nur Tetraden, besonders in dünnen Präparaten. Ganz unzweifelhaft ist nun die Würfel- und Paketbildung im hängenden Tropfen aus Bouillonkulturen, doch sehen wir auch hier außer den Würfeln sehr häufige Tetraden, besonders wenn der Bodensatz, den wir meist untersuchten, etwas stark aufgeschüttelt wurde.

Die zweite abnorme Eigenschaft ist die starke Kapselbildung, auch in Kulturen. Wie oben näher ausgeführt, finden wir besonders im schleimigen Exsudate des Peritoneums, aber auch in Abszessen, große zusammenhängende Klumpen einer schleimartigen Substanz, in der die einzelnen Tetraden in ziemlich regelmäßigen Abständen gelagert sind. Genau dasselbe finden wir nun in Präparaten aus Agarkulturen; in Abstrichen aus Bouillon sind die Tetraden statt dessen von einer unregelmäßig geschrumpften Schleimhülle und reichlichen Verbindungsfäden zwischen den einzelnen Tetraden umgeben. Diese Eigenschaft, die Kapsel in der Kultur beizubehalten, konnte ich bisher für den Tetragenus nirgends angegeben finden, wohl aber beschreibt Sauerbeck unter dem Namen „Sarcina mucosa nova species?" einen Mikroorganismus, der nach diesem Merkmale sowohl wie nach den meisten anderen (der Hauptunterschied besteht in größerer Virulenz der Sauerbeckschen Sarzine) mit dem



meinen identisch sein muß. Im Gegensatze zu Sauerbeck möchte ich nun auf dieses Merkmal hin nicht eine neue Spezies gründen, da doch die Kapselbildung auch an anderen Bakterien als sehr variabel bekannt ist; ich glaube vielmehr, daß wir beide Mikroorganismen der Spezies Sarcina tetragena zuweisen können, vielleicht als besonders stark schleimbildende Abarten.

Diese auffallend starke Kapselbildung erklärt uns übrigens verschiedene andere morphologische und biologische Merkmale, so die zähschleimige Beschaffenheit der Kulturen und des Peritonealinhaltes beim Tiere. Meinen Präparaten nach zu schließen, wird nämlich die Flüssigkeit im Peritoneum oft fast nur von den Kapseln gebildet; zwischen ihnen finden wir mit den verschiedensten Färbungen fast keine Plasma, ebensowenig wie Zellen. Die Kapselbildung bewirkt wohl auch die regelmäßige Lagerung und das feste Zusammenhalten von Tetraden und Würfeln in meinem Falle. Mit dieser Erklärung befinde ich mich im Einverständnisse mit Boutron, der wohl die beste Beschreibung des Tetragenus geliefert hat. Wenigstens erklärt er die mangelnde Regelmäßigkeit in seinen Kulturen mit dem Fehlen der Kapselbildung in diesen, im Gegensatze zum tierischen Organismus. Übrigens möchte ich glauben, daß auch in gewöhnlichen Kulturen der Sarcina tetragena etwas von Kapselbildung erhalten sein muß, denn anders als dadurch ließen sich die weiten Abstände der einzelnen Tetraden auf festen Kulturmedien, wie ich es übereinstimmend mit Lehmann und Neumann gesehen habe, kaum erklären.

Weniger ausführlich brauchen wir die kulturellen Eigenschaften zu besprechen; denn sie sind mit ganz geringen Ausnahmen typisch, so typisch, daß keine andere Sarzine in Betracht kommen kann. Schon der dicke, weiße, glänzende Agarstrich, der unten breit und oben schmal von einem französischen Autor mit einer Tänie verglichen wurde, ist charakteristisch. Als weitere Charakteristica nenne ich noch den Mangel an Gelatineverflüssigung und die distinkte Lagerung der einzelnen Tetraden in den Agarkulturen. Dagegen kommt die ganz geringe Trübung der Bouillon nicht in Betracht; eine solche wird übrigens auch von mehreren Autoren (Benoit, Castaigne, Delalande, Ceraulo und Vetrano usw.) angegeben und ist z. B. mit der Trübung durch einen Staphylococcus nicht zu vergleichen. Die Milchkoagulation ist nach Lehmann und Neumann wechselnd; außer in meinem Falle fand ich sie bei Benoit. Bezançon, Boutron, Castaigne, Ceraulo und Vetrano, Chauffard et Ramond. R. Müller und Sterling als fehlend angegeben.

Die kulturellen Merkmale geben mir Gelegenheit, kurz von den verschiedenen Variationen zu sprechen, die von früheren Autoren beschrieben



wurden. Besonders wurde ein Unterschied der Farbe oft sehr hervorgehoben oder daraus gar eine besondere Art „aureus", „citreus" „subflavus" usw. gemacht. Die Untersuchungen von Boni, der in einem Falle gelbe und weiße Kolonien fand, machen eine Identität der verschiedenen Formen sehr wahrscheinlich. Weiterhin wurden von einigen Autoren (Laignel-Lavastine, Chauffard et Ramond Fall II, Sterling) Stämme mit der Eigenschaft der Gelatineverflüssigung beschrieben; hier halte ich es in Übereinstimmung mit R. Müller für möglich, daß eine Verwechselung mit Staphylokokken vorliegt, besonders da z. B. im Falle von Laignel-Lavastine auch andere Merkmale nicht ganz für die Sarcina tetragena passen. Immerhin lassen sich, wie Chauffard et Ramond ziemlich überzeugend darlegen, auch Übergänge zum Staphylococcus denken, welche in der Form dem Tetragenus, in anderen Eigenschaften dem Staphylococcus näher stehen. Allerdings halte ich es nicht für richtig, einen Stamm nach der Form allein als Tetragenus zu benennen. Ich selbst beobachtete lange einen Stamm, den ich nach der auffallend regelmäßigen Lagerung der Kokken in Tetraden und größeren Tafeln zuerst als Tetragenus ansah; nach den übrigen Eigenschaften (Mangel einer deutlichen Kapsel, Gelatineverflüssigung, starke Trübung der Bouillon usw.) mußte ich ihn als Staphylococcus anerkennen und fand dann auch manchmal neben den Tafeln Bilder einer unregelmäßigen Teilung.

Zur Bestimmung der Virulenz und des pathologisch anatomischen Verhaltens beim Tiere habe ich zunächst einige Versuche an Kaninchen gemacht. Sie zeigten in verschiedenen Variationen die gänzliche Unschädlichkeit für dieses Tier; speziell hebe ich hervor, daß auch eine ältere Bouillonkultur keinerlei Effekt machte, was wohl beweist, daß keine oder wenig Toxine darin vorhanden waren. Von zwei weißen Ratten erkrankte und starb nur die eine, subkutan gespritzte, während die intraperitoneal injizierte gesund blieb.

Größer war die Virulenz für das Meerschweinchen. Von sechs subkutan geimpften Tieren im Gewichte von 300 bis 400 grm starben 4 innerhalb 8 bis 15 Tagen; die 4 intraperitoneal geimpften Meerschweinchen erlagen alle zwischen 7 und 13 Tagen; dabei erschien die Dosis ziemlich gleichgültig. Der Befund bestand bei beiden Arten der Impfung in einer allgemeinen Bakteriämie; diese war so stark, daß die Sarzinen meist nicht nur in der Kultur sondern auch in frischen Ausstrichen des Herzblutes und in den Organschnitten (hier mit einfacher Hämalaunfärbung!) meist leicht nachgewiesen werden konnten. Ich bemerke ausdrücklich, daß diese Überschwemmung vital sein muß, da ich sie auch bei einem Tiere fand, das ich in der Agone tötete und sofort sezierte; hingegen habe ich die Frage des zeitlichen Auftretens der Bakteriämie nach der Infektion nicht



geprüft. Von lokalen Symptomen bestand bei subkutaner Impfung immer ein ziemlich ausgedehnter Abszeß, meist mit dickem, eitrigem Inhalt. Im Peritoneum dagegen war die Reaktion sehr gering; meist fand sich nur ein schleimiges Exsudat, das, wie oben angeführt, fast nur aus den Bakterien und ihren Kaspeln bestand; manchmal beschränkte sich auch dieses Exsudat auf einen dünnen Überzug von Leber und Milz. Einmal konnte ich allerdings unter der Leber eine ziemlich starke Eiterung nachweisen, welche sogar in die Leber eindrang. Von anderen Lokalisationen fand ich einmal eine starke, eitrige Pleuritis und in den meisten Fällen Veränderungen der Nieren. Hier waren die Glomeruli meist stark mit Sarzinen angefüllt, und zwar viel stärker als andere Kapillaren; die Reaktion bestand oft nur in Hyperämie, selten in einem kleinen, beginnenden Abszeß. Hingegen fanden sich in vier von den sechs mikroskopisch untersuchten Fällen kleine Abszesse im Mark; diese erinnern ganz an die bekannten miliaren Staphylokokkenabszesse in der Kaninchenniere, und ihre Entstehung ist wohl auf die Ausscheidung der Bakterien durch die Tubuli bedingt. Eine allgemeine Läsion der Niere, bestehend in starker Verfettung, fand ich nur in einem einzigen Falle. In Milz, Lunge und Leber fand ich trotz der oft starken Bakterienüberschwemmung keine entzündlichen Veränderungen. Hingegen scheint mir die teilweise hämorrhagische Entzündung im oberen Dickdarme erwähnenswert, die ich in mehreren Fällen (mit und ohne Peritonitis!) konstatieren konnte.

Bei den Versuchen mit Mäusen fand ich keine ganz gleichmäßige Wirkung, indem eine subkutan und eine intraperitoneal geimpfte Maus in 4 bzw. 6 Tagen starben, während zwei weitere subkutan geimpfte Tiere am Leben blieben. Der Sektionsbefund war im allgemeinen dem beim Meerschweinchen entsprechend.

Die Virulenz für die verschiedenen Tierarten stimmt also mit dem, was über die Sarcina tetragena bekannt ist, insofern überein, als unsere Sarzine nur für Meerschweinchen, Mäuse und Ratten, nicht für Kaninchen, pathogen ist. Meist wird allerdings, besonders für Mäuse, eine promptere Wirkung angegeben (z. B. Lode usw.), doch finde ich in mehreren, wohl sicheren Fällen der Literatur (Benoit, Boutron, Meltzer, Ziegler) auch menschenpathogene Stämme, welche für die Laboratoriumstiere unschädlich waren. Ich sehe in diesen Verschiedenheiten eine Analogie zum Verhalten vieler anderer Bakterien und glaube nicht, daß man darum verschiedene Gruppen, wie den „Tetragenus septicus, Boutron" abtrennen muß.

Wir kommen zur Besprechung des Krankheitsbildes beim Menschen. In meinem Falle fanden wir bei einem älteren, nicht mehr gesunden Manne (Nephritis chronica, Leberzirrhose, Hämochromatose, starke Adipo-



sitas universalis usw.) eine langsam fortschreitende Phlegmone. Ein infizierter Insektenstich am Arm ist wohl, wie der Patient selbst angibt, als das Primäre anzusehen; die Hautgangrän am Rücken erscheint nach dem Sektionsbefund als Folge der Phlegmone, nicht als eine selbständige Erkrankung. Zu irgendwelchen metastatischen Eiterungen ist es nach der makroskopischen und mikroskopischen Untersuchung der meisten Organe nicht gekommen. Der Patient zeigte klinisch etwas schwerere Erscheinungen von seiten der Niere, als bei einer gewöhnlichen Schrumpfniere sonst nachweisbar sind, und es ist wohl wahrscheinlich, daß diese Alteration wenigstens zum Teil auf Kosten des phlegmonösen Prozesses zu setzen ist. Bakterien konnten zwar bei der mikroskopischen Untersuchung der Niere nicht nachgewiesen werden. Eine Bakteriämie allerdings hat nach dem Befunde im Herzblute bestanden und kann wohl kaum als postmortal angesehen werden, da die Sektion schon $3^1/_2$ Stunden nach dem Tode ausgeführt wurde. Klinisch tritt allerdings die Bakteriämie nach dem fast afebrilen Verlaufe der Affektion ganz in den Hintergrund und kann vielleicht als agonal aufgefaßt werden.

Eine besondere Besprechung verdient vielleicht noch der Befund der multiplen Darmblutungen. Da wir in Tierversuchen nicht selten Darmblutungen begegnet sind, die allerdings im Gegensatze zu meinem Falle sich ganz zirkumskript im oberen Dickdarme fanden, kann man sich die Frage vorlegen, ob nicht auch diese Affektion auf die Infektion zurückgeführt werden müsse. Weil der Patient aber sowohl eine chronische Schrumpfniere als eine Leberzirrhose aufwies, die beide sehr häufig mit Darmblutungen kombiniert sind, ist in diesem Falle eine sichere Entscheidung über die Ätiologie der Darmsymptome nicht möglich.

Nach der bakteriologischen Untersuchung in Abstrichen und Kulturen müssen wir nun unsere Sarzine als den einzigen Erreger der Affektion ansehen. Die Annahme einer völligen Verdrängung eines anderen, primären Erregers durch die Sarzine ist bei Berücksichtigung des progredienten Prozesses und des Sektionsresultates wohl sicher völlig von der Hand zu weisen.

Ich will hier die schon in der Einleitung zusammengestellten Fälle anderer Autoren nicht noch einmal besprechen. Mein Fall gehört wohl dem klinischen Verlaufe nach in die bisher spärlich vertretene Gruppe der vorwiegend lokal verlaufenden eitrigen Affektionen, die von der äußeren Körperoberfläche ausgehen. Er zeigt, daß R. Müller gewiß zu weit geht, wenn er alle Tetragenusinfektionen als vom Munde ausgehend betrachtet. Der Fall ist endlich ein weiterer Beweis dafür, daß die Sarcina tetragena (besonders entgegen der Annahme v. Baumgartens) in die Gruppe der Eitererreger beim Menschen gehört.



Zusammenfassung.

In einer langsam verlaufenden und tödlich endenden Phlegmone beim Menschen wurde als einziger Erreger eine Sarzine gefunden, welche nach ihren Haupteigenschaften als Sarcina tetragena aufzufassen ist.

Auffallend ist die deutliche Würfel- und Paketbildung im Tierkörper und in Kulturen sowie die starke Kapselbildung in Kulturen; diese Eigenschaften teilt sie mit der „Sarcina mucosa" von Sauerbeck.

Im Tierexperimente fand sich bei Meerschweinchen neben lokaler Eiterung und Bakteriämie fast konstant eine Läsion der Niere, oft auch des Dickdarms.

Nach meinen und früheren Befunden im Menschen- und Tierkörper ist die Sarcina tetragena als menschenpathogen und als Eitererreger aufzufassen.



Literatur-Verzeichnis.

Apert, Le tétragène dans les angines. *Comptes rendus de la Soc. de biolog.* 29. Jan. 1898.

Arullani, Anemia perniciosa progressiva da micrococco tetrageno. *Gaz. degli Osp. e delle Clin.* 1905. Nr. 85. (Ref. *C. f. Bakt.* Bd. XLII. Ref. S. 212.)

v. Baumgarten, *Lehrbuch der pathogenen Mikroorganismen.* Leipzig 1911.

Benoit, Contribution à l'étude des tétragènes. *Gaz. hebd.* 1898. p. 25.

M. F. Bezançon, Méningite suppurée localisée due au microcoque tetragène. *Semaine méd.* 1898. p. 40.

Boni, Dicromia del micrococco tetrageno in un caso di setticopiemia. *Gaz. degli Osp. e delle Clin.* (Ref. *C. f. Bakt.* Bd. XL. Ref. S. 126.)

Bosc et Galavielle, Recherches sur le micrococcus tetragenus etc. *Arch. de méd. exp. et d'anat. path.* 1899. T. XI. p. 70. (Ref. *C. f. Bakt.* Bd. XXVI. Ref. S. 270.)

Boutron, Recherches sur le micrococcus tetragenus septicus etc. *Thèse de Paris.* 1893.

Brugnola, Anemie gravi e setticemie da micrococco tetrageno albo. *Riforma med.* 1906. p. 60. (Ref. Baumgartens *Jahresberichte.* 1906. S. 243.)

Castaigne, Pleurésie purulente et septicémie mortelle etc. *Bullet. de la soc. anatom. de Paris.* Mai 1897. T. LXXII. p. 394.

Chauffard et Ramond, Deux cas mortels de septicémie tétragénique. *Arch. de méd. expér.* 1896. (Zit. nach Delalande.)

Ceraulo u. Vetrano, Über eine Form von Mischseptikämie. *Zeitschrift für klin. Medizin.* 1910. Bd. LXX. S. 319.

Debove, Endocardite par septicémie tétragénique. *La Presse médicale.* 1907. Nr. 106. (Zit. K. Ziegler.)

Delalande, Contribution à l'étude du micrococcus tetragenus. *Thèse de Paris.* 1899.

Deléarde, Bronchopneumonie à tétragènes purs. *Gaz. hebd.* 1897. p. 637.

Fornaca, Contributo allo studio della setticemia da micrococco tetrageno nell' uomo. *Riforma med.* 1903. Nr. 12. (Ref. *C. f. Bakt.* Bd. XXXV. Ref. S. 42.)

Heim, *Lehrbuch der Bakteriologie.* 1911. 4. Aufl.

Jakowski, *Die pathogenen Mikroben.* (Polnisch.) Warschau 1886. (Zit. nach Steinhaus.)

Kapper, *Wiener med. Presse.* 1890. Nr. 27. (Zit. nach R. Müller.)

Karlinski, Statistischer Beitrag zur Kenntnis der Eiterungserreger. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1890. Bd. VII. S. 113.



Kolle u. Hetsch, *Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten.* 1911. 3. Aufl.

Kolle u. Wassermann, *Handbuch der pathog. Mikroorganismen.* Jena 1903.

Laignel-Lavastine et Baufle, Septicémie à tétragène au déclin d'une fièvre typhoide. *Comptes rendus soc. biol.* 1909. T. LXVII. p. 661.

Lartigau, A contribution to the study of the micrococcus tetragenus in acute angina. *Philadelphia medical Journal.* 1899. Vol. III p. 899. (Ref. *C. f. Bakt.* Bd. XXVIII. S. 393.)

Le Damany, Recherches sur les pleurésies etc. *Thèse de Paris.* 1897.

Lehmann u. Neumann, *Atlas u. Grundriß der Bakteriologie.* 1907. 4. Aufl.

Lode, Ist die graue Hausmaus natürlich immun etc.? *Centralblatt f. Bakt.* 1901. Bd. XXIX. Abt. I. Orig. S. 298.

Looten et Qui, Infection puerpérale prolongée etc. *Annales de Gyn. et d'Obst.* 1909. p. 134.

Meltzer, Über den Micrococcus tetragenus bei Septikämien u. Mischinfektionen. *Münchener med. Wochenschrift.* 1910. S. 743.

Migula, zit. nach Lehmann u. Neumann.

Rud. Müller, Über abdominelle Infektionen mit Micrococcus tetragenus. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1904. S. 815.

Park, *Medical News.* 1888. Vol. LIII. Nr 14. (Zit. nach R. Müller.)

Pende, Meningite da micrococco tetrageno. *Policlinico, Sez. pratica.* 1907. Nr. 26. (Ref. *C. f. Bakt.* Bd. XLI. Ref. S. 294.)

Sauerbeck, Sarcina mucosa nova species? *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1909. Bd. L. Orig. S. 289.

Derselbe, Kapselbildung und Infektiosität der Bakterien. *Diese Zeitschrift.* 1909. Bd. LXIII. S. 313.

Steinhaus, Zur Ätiologie der Eiterung. *Ebenda.* 1888. Bd. V. S. 518.

Sterling, Ein neuer Micrococcus im Blute und Harn gefunden. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XIX. S. 141.

Viquerat, Der Micrococcus tetragenus als Eiterungserreger beim Menschen. *Diese Zeitschrift.* 1894. Bd. XVIII. S. 411.

K. Ziegler, Ein in Heilung ausgehender Fall von Tetragenussepsis. *Münchener med. Wochenschrift.* 1908. S. 2487.



[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
(Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Lentz.)

Untersuchungen über Vibrionen.

Von

Dr. **Fritz Sparmberg,**
früherem Assistenten am Institut.

Im bakteriologischen Laboratorium der Cholera-Überwachungsstelle Schilno a. d. Weichsel wurden von Dr. Huntemüller und mir im Sommer 1910 neben Choleravibrionen, welche von drei gesunden Bazillenausscheidern stammten, auch morphologisch und kulturell choleraähnliche Vibrionen aus den Fäzes von Flößern und Schiffern sowie aus Weichselwasser isoliert. Die bakteriologische Stuhluntersuchung gestaltete sich derart, daß nach 6 bis 12stündiger Anreicherung der Stuhlproben in Peptonkölbchen aus diesen 1 bis 2 Dieudonné-Platten beimpft wurden.

Zur Herstellung der Dieudonné-Platten benutzten wir mit sehr gutem Erfolge das Marxsche Ragitagarpulver. Das Blutalkali wurde uns aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin zugeschickt. Verdächtige, durchsichtige Kolonien wurden der Agglutination unterzogen (Orientierende Agglination mit Choleraserum 1 : 100, Titer des Serums 1 : 20000) und außerdem im hängenden Tropfen untersucht, um festzustellen, ob die verdächtigen Kolonien Kokken, unbewegliche Stäbchen Sarcine oder Vibrionen waren. Es gelang uns nun aus den Fäzes der Flößer und Schiffer Vibrionen zu isolieren, von denen einige durch ihr Wachstum auf Dieudonné-Agar, zum Teil durch ihren Geruch, besonders aber durch ihre Kommaform und ihre Beweglichkeit im hängenden Tropfen mehr oder weniger an Choleravibrionen erinnerten.



Ich habe diese Vibrionen späterhin einer genaueren Untersuchung unterzogen, wobei ich von dem Medizinalpraktikanten Hrn. Dr. Leist in dankenswerter Weise unterstützt wurde. Das Ergebnis der Untersuchung soll im folgenden kurz wiedergegeben werden. Durch die Geißelfärbung nach Zettnow wurden die eingeißligen Vibrionen bestimmt, da diese differentialdiagnostisch für Cholera das größte Interesse haben. Es fanden sich unter der ziemlich reichlichen Vibrionenausbeute nur sechs eingeißlige Vibrionen. Der überwiegend größte Teil erwies sich als mehrgeißlig.

Für die folgende Untersuchung habe ich nur einige von den Mehrgeißligen weiter verfolgt, um sie in ihrem morphologischen, kulturellen und biologischen Verhalten den Eingeißligen gegenüberzustellen.

Tabelle I gibt eine Übersicht über die Anzahl der Geißeln, die Beweglichkeit im hängenden Tropfen und die Form der einzelnen Vibrionen.

Tabelle I.

Vibrionen	Anzahl der Geißeln (Färb. nach Zettnow)	Beweglichkeit im hängenden Tropfen (Peptonwasser)	Form: (Von Starkagarplatte gefärbt mit Karbolfuchsin 1 : 10)
Vibrio 1 (Schilno Nr. 2261)	1	mückenschwarmartig, durch das Gesichtsfeld schießend	kurze, plumpe Kommaform.
Vibrio 2 (Schilno Nr. 6546)	1	desgl.	Kommaform.
Vibrio 3 (Schilno Nr. 2234)	1	„	Komma, u. Spirillenform.
Vibrio 4 (Schilno Nr. 2243)	1	„	Kommaform.
Vibrio 5 (Schilno Nr. 1595)	1	„	kurze, gekrümmte, plumpe Stäbchen.
Vibrio 6 (Schilno W. 1)	1	durch das Gesichtsfeld schießend, aber langsamer als die vorhergehenden	wenig gekrümmte, lange Stäbchen.
Vibrio 7 (Schilno Nr. 2865)	6	langsam, träge durch das Gesichtsfeld segelnd	kurze, wenig gekrümmte Stäbchen.
Vibrio 8 (Schilno Nr. 3065)	6—8	langsam, träge	lange Fäden, Fragmente zeigen geringe Krümmung.
Vibrio 9 (Schilno Nr. 1225)	4	wie Vibrio 8	dünne Stäbchen, zum Teil Kommaform.
Vibrio 10 (Schilno Nr. 1537)	3 u. mehr	wenig beweglich	wenig gekrümmte, dünne Stäbchen.
Vibrio 11 (Schilno Nr. 3657)	6 u. mehr	langsam, segelnde Beweglichkeit	dünne Stäbchen, vereinzelte mit schwacher Krümmung.

Der Vibrio 6 stammt nicht aus dem Stuhl, sondern aus Weichselwasser, welches zwischen den Floßhölzern entnommen wurde. Die eingeißligen Vibrionen zeigen fast alle die für Choleravibrionen typische



mückenschwarmartig-schießende Beweglichkeit im hängenden Tropfen, während die mehrgeißligen eine langsamere, mehr segelnde, schlängelnde Beweglichkeit haben. Es hat den Anschein, als wenn die Beweglichkeit im umgekehrten Verhältnis zur Anzahl der Geißeln steht. Vielleicht beruht dies darauf, daß die Mehrgeißligen sich selbst und gegenseitig durch ihre Geißeln in ihrer Beweglichkeit hemmen.

Die eingeißligen Vibrionen haben alle mehr oder weniger Kommaform, während bei den mehrgeißligen bezüglich der Krümmung eine ziemliche Unregelmäßigkeit auch unter den einzelnen Vibrionen derselben Kolonie besteht, derart, daß man neben wenig aber deutlich gekrümmten auch gerade Formen sieht. Immerhin überwogen die gekrümmten Formen derart, daß an dem Vibrionencharakter der Kultur kein Zweifel aufkommen konnte.

Sehr häufig fanden wir im Stuhle der Flößer und Schiffer die langen — von uns als „Flissackenaal" bezeichneten — Fäden des Vibrio 8. Derselbe fand sich auch mit Choleravibrionen vergesellschaftet im Darme eines Cholerabazillenträgers, eines Schiffers aus Freiburg a. d. Elbe, der während 250 Tagen im Königl. Institute für Infektionskrankheiten unter bakteriologischer Kontrolle stand. Die Dieudonné-Plattenkulturen von

Tabelle II.

Vibrionen		Wachstum auf Starkagar-Platten	Wachstum auf Dieudonné-Platten
Vibrio	1	glasig-durchsichtig, bläulich schimmernd, scharfrandig	durchscheinend wie Cholera, mit mattglänzender Oberfläche, bei auffallendem Licht grau-grünlicher Schimmer.
„	2	wenig durchscheinende Kolonien	wie Vibrio 1, im Geruch fast wie Cholera.
„	3	glasig-durchscheinend, mit großem, wenig durchscheinenden Zentrum	wie Vibrio 1.
„	4	nicht so durchsichtig wie Cholera, sondern mit einem matten Schleier	sehr cholera-ähnlich.
„	5	sehr cholera-ähnlich	fast wie Cholera, auch im Geruch.
„	6	wenig durchscheinend mit bläulichem Schimmer	wie Vibrio 1.
„	7	wenig durchscheinend	„ „ 1.
„	8	wenig durchscheinend mit gelblichem Schleier und zentralem Kern	durchscheinende flache Kolonien mit trockener Oberfläche.
„	9	durchscheinend, mit zentralem Kern, unregelmäßig gezacktem Rand	wie Vibrio 1.
„	10	wenig durchscheinend, unregelmäßig gezackter Rand	„ „ 1.
„	11	wenig durchscheinend mit bläulichem Schimmer, mit zackigem Rand	„ „ 1.



dem Stuhle dieses Schiffers zeigten neben den typischen Cholerakolonien stets auch sehr viele von denen des Vibro 8; oft war die ganze Platte mit diesem Vibrio bewachsen, und auf dessen Kolonien aufsitzend fanden sich deutlich vereinzelte Cholerakolonien, so daß man fast an eine Symbiose beider Vibrionen denken könnte. Der Vibrio 8 wächst auf dem Dieudonné-Nährboden in durchscheinenden flachen Kolonien mit trockener Oberfläche, während die Cholerakolonien etwas kleiner sind, mit grau-weißlich schimmernder, feuchtglänzender, ein wenig gewölbter Oberfläche wachsen und ein gelbrötliches Zentrum erkennen lassen.

Tabelle II zeigt das Wachstum der Vibrionen auf Starkagar und Dieudonné-Nährboden.

Auf der Starkagarplatte zeigen Vibrio 1 und Vibrio 5 ein dem Choleravibrio sehr ähnliches Wachstum, während die Kolonien der übrigen eingeißligen, besonders aber die der mehrgeißligen Vibrionen weniger den Cholerakolonien ähnlich sind. Auf der Dieudonné-Platte sind die Wachstumsunterschiede gegen Choleravibrionen nicht immer so deutlich, wohl aber kann man die Choleravibrionen, wenn die Platte reichlich damit bewachsen ist, an ihrem typischen Geruch erkennen. Denselben Geruch hat aber auch der Vibrio 2 und Vibrio 5.

Tabelle III.

	Nitroso-Indolreaktion (nach Zusatz von 6 bis 8 Tropfen nitritfreier Schwefelsäure zu einer mehrere Tage alten Peptonwasserkultur) Alter der Kultur:		Virulenz für Meerschweinchen	Virulenz für Tauben
	24 Stunden	48 Stunden		
Vibrio 1	+	+ + +	intrap. 1/4 Öse † n. 24 Std.	intram. 1/2 Öse bleibt leben
„ 2	+	+ +	„ 1/4 „ † n. 24 „	„ 1/2 „ † n. 24 Std.
„ 3	+	+ +	„ 1/8 „ † n. 24 „	„ 1/2 „ bleibt leben
„ 4	+	+ + +	„ 1/10 „ † n. 24 „	„ 1/2 „ † n. 24 Std.
„ 5	+ +	+ + +	„ 1/4 „ † n. 24 „	„ 1/2 „ † n. 24 „
„ 6	±	±	„ 1/2 „ † n. 24 „	„ 1/2 „ bleibt leben
„ 7	—	—	„ 1 „ bleibt leben	„ 1/2 „ „ „
„ 8	—	—	„ 1 „ „ „	„ 1/2 „ „ „
„ 9	—	—	„ 1 „ „ „	„ 1/2 „ „ „
„ 10	—	—	„ 1 „ „ „	„ 1/2 „ „ „
„ 11	—	—	„ 1 „ „ „	„ 1/2 „ „ „



Alle eingeißligen Vibrionen geben, wie aus Tabelle III hervorgeht, die Nitroso-Indolreaktion, am schwächsten der direkt aus dem Wasser gezüchtigte Vibrio 6. Dieser verhält sich auch am wenigsten virulent gegen Meerschweinchen. Der Sektionsbefund der Meerschweinchen bot ein ähnliches Bild wie bei den mit tödlichen Dosen von Choleravibrionen intraperitonial gespritzten Meerschweinchen: Starke Injektionen der Serosa des Dünn- und Dickdarmes, reichlich seröses Exsudat in der Bauchhöhle mit fibrinös-membranösen Auflagerungen und Milzschwellung. Vibrionen wurden aus Herzblut, Milz und Leber gezüchtet.

Auf der Hammelblut-Agarplatte zeigten alle eingeißligen Vibrionen starke Hämolyse. Zur Prüfung wurden stets frische Starkagarkulturen benutzt und mit der Platinöse auf der Blutplatte in größeren Abständen mehrere Ausstriche gemacht. Schon nach 24 Stunden hatte sich ein breiter, hämolytischer Hof an dem Impfstrich gebildet. Ziemlich parallel verlief auch die Hämolysinbildung in vitro. Diese prüfte ich in der Weise, daß ich zu 3 bis 4 ccm einer 5prozentigen Aufschwemmung von defibrinierten ausgewaschenen Hammelblutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung ½ bis 1 Öse der zu untersuchenden Kultur zusetzte und 24 Stunden in den Brutschrank bei 37° einstellte. Nach 24 Stunden hatten sich die Blutkörperchen zu Boden gesenkt, die überstehende Flüssigkeit war durch das inzwischen eingetretene Bakterienwachstum getrübt, aber nicht blutig tingiert. War der untersuchte Vibrio ein

Tabelle IV.

	Hämolysinbildung			
	auf Hammelblut-Agarplatte			in 5 proz. Hammelblut-körperchenaufschwemmung
	nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 72 Std.	nach 24 Stunden
Vibrio 1	+++			+++
„ 2	++			+++
„ 3	+++			+++
„ 4	+++			+++
„ 5	+++			+++
„ 6	+++			+++
„ 7	—	—	—	—
„ 8	—	—	—	—
„ 9	—	—	—	—
„ 10	—	—	—	—
„ 11	—	—	—	—

+++ = sehr starke Hämolysinbildung.
++ = starke Hämolysinbildung.



Tabelle V.

Verdünnung der agglutinierenden Sera 1 : 100.

Stamm	Agglutin. Serum von Vibrio 1	Agglutin. Serum von Vibrio 2	Agglutin. Serum von Vibrio 3	Agglutin. Serum von Vibrio 5	Agglutin. Serum von Vibrio 6	Agglutin. Serum von Vibrio 10	Agglutin. Serum von Vibrio 11	Agglutin. Serum von Vibrio 7	Agglutin. Serum von Cholera
Vibrio 1	1 : 2000	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 2	—	1 : 10 000	—	—	—	—	—	—	—
„ 3	—	—	1 : 10 000	—	—	—	—	—	—
„ 5	—	—	—	1 : 2000	—	—	—	—	—
„ 4	—	—	1 : 10 000	—	—	—	—	—	—
„ 6	—	—	—	—	1 : 2000	—	—	—	—
„ 10	—	—	—	—	—	1 : 1000	—	—	—
„ 11	—	—	—	—	—	—	1 : 1000	—	—
„ 7	—	—	—	—	—	—	—	1 : 1000	—
Choleravibrio H. Jungclaus	—	—	—	—	—	—	—	—	1 : 18 000
Cholera „70“	—	—	—	—	—	—	—	—	1 : 18 000
„Ruhleben I“	—	—	—	—	—	—	—	—	1 : 18 000
„Grete Milz“	—	—	—	—	—	—	—	—	1 : 18 000
„Schilno III“	—	—	—	—	—	—	—	—	1 : 18 000
„Schilno I“	—	—	—	—	—	—	—	—	1 : 18 000

Hämolysinbildner, so trat beim Schütteln des Röhrchens sofort Hämolyse ein, d. h. im Reangenzglas bildete sich eine homogene dunkel- bis hellrote durchsichtige Lösung, während bei den Kontrollen mit physiologischer Kochsalzlösung und Blut allein und bei den nicht hämolysierenden Vibrionen nach Umschütteln wieder die ungelösten roten Blutkörperchen eine stark getrübte undurchsichtige Aufschwemmung bildeten und sich nach längerem Stehen oder Zentrifugieren absetzten, so daß die überstehende Flüssigkeit wieder klar und farblos erschien. Alle von mir untersuchten mehrgeißligen Vibrionen gaben weder auf der Hammelblut-Agarplatte, noch in vitro Hämolyse.

Zur serodiagnostischen Untersuchung wurden von den eingeißligen und einigen mehrgeißligen Schilnoer Vibrionen agglutinierende Kaninchensera hergestellt. Das Ergebnis der Kreuzagglination ist aus Tabelle V ersichtlich. Mit Vibrio 4 stellte ich kein Serum her, da er von dem Serum des Vibrio 3 bis zum Endtiter agglutiniert wurde, also mit diesem identisch ist.

Beide stammen aus dem Stuhl von zwei Schiffern eines russischen Dampfers. Der Kreuzagglination wurden auch besonders mit Rücksicht auf die kürzlich veröffentlichten Arbeiten von Zlatogoroff und Horowitz[1] einige Stämme unserer Cholerasammlung unterzogen, und zwar Cholera „70", ein mehrere Jahre alter sehr virulenter Stamm, und „Ruhleben I", ein $^3/_4$ Jahre alter Stamm von einem tödlich verlaufenen Cholerafall, Cholera „Heinrich Jungclaus" und „Grete Milz" von Cholerarekonvaleszenten stammend, und endlich die Stämme „Schilno I" und „Schilno III", welche in Schilno aus Stühlen von gesunden Bazillenausscheidern gezüchtet wurden.

Zwischen den untersuchten eingeißligen, mehrgeißligen und den Choleravibrionen und den bezüglichen agglutinierenden Seren findet, wie aus Tabelle V hervorgeht, außer mit den homologen Stämmen keine Beeinflussung statt, obwohl ich mit einer Serumverdünnung 1 : 100 arbeitete.

Von den eingeißligen choleraähnlichen Vibrionen wurde kein einziger von agglutinierendem Choleraserum (Titer 1:20000) in der Serumverdünnung 1:100 agglutiniert, und ebenfalls wurde keiner der untersuchten Cholerastämme von den Seren der eingeißligen choleraähnlichen Vibrionen beeinflußt. Die Choleraähnlichkeit der Schilnoer eingeißligen Vibrionen beruht also nur auf äußeren kulturellen und morphologischen Eigenschaften, serodiagnostisch sind sie scharf von den Choleravibrionen zu trennen.

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. LVIII. Nr. 1.



Ich halte die aus dem Stuhle gezüchteten Schilnoer choleraähnlichen Vibrionen für Wasservibrionen, welche infolge der Lebens- und Nahrungsverhältnisse der Flößer und Schiffer in deren Darm gelangen, sich dort bei günstigen chemischen und bakteriellen Darmverhältnissen vermehren und längere oder kürzere Zeit ausgeschieden werden können — es sind zufällige Nebenbefunde bei den Stuhluntersuchungen und mit Choleravibrionen — im Sinne von Zlatogoroff — nicht identisch. Wenn in Zeiten von Choleraepidemien häufiger eingeißlige, nicht mit spezifischem Choleraserum agglutinierende Vibrionen in den Fäzes von Gesunden oder Kranken gefunden werden, so ist dies wohl dadurch zu erklären, daß man in dieser Zeit mit besonderer Aufmerksamkeit nach Vibrionen sucht und sie auch öfters findet, weil sie eben besonders in der wärmeren Jahreszeit bei der in der Nähe und auf Flüssen lebenden und Flußwasser trinkenden Bevölkerung (Flößer, Schiffer) im Darm vorkommen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß diese Wasservibrionen gelegentlich als Erreger von Gastroenteritiden in Betracht kommen und so eine Disposition für Cholera asiatica schaffen können.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg.]
(Direktor: Prof. Dr. W. Kruse.)

Über Streptokokken in der Milch und im Säuglingsstuhl.[1]

Von

Dr. med. **Richard Puppel,**
früherem I. Assistenten am Institut.

Streptokokken in der Milch können verschiedenen Ursprungs sein. Daß diesem Umstande bei Beurteilung der Milchstreptokokken nicht genügend Rechnung getragen wurde, darin liegt wohl eine Hauptursache, daß in der Frage nach ihrer Gefährlichkeit für den Menschen bisher keine Einigung erzielt ist.

Es ist ohne weiteres klar, daß man die Milchstreptokokken nach ihrer Herkunft in vier Gruppen trennen muß:

1. Streptokokken, die von der Hand oder einem sonstigen Körperteil des Melkers herstammen, oder sonst auf irgend einem Wege vom Menschen in die Milch gelangt sind.

2. Streptokokken, die mit dem Eiter mastitiskranker Kühe in die Milch gekommen sind.

3. Streptokokken, die von der Haut oder den Schleimhäuten der Rinder, wo sie als Schmarotzer fast regelmäßig vorkommen, in die Milch geraten sind.

[1] Auszugsweise vorgetragen in der gemeinsamen Sitzung der Abteilung für Kinderheilkunde und Hygiene auf der 82. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Königsberg 1910. Vgl. auch die Diskussionsbemerkungen Kruses ebenda. Die Veröffentlichung hat sich aus äußeren Gründen etwas hingezogen.



4. Schließlich solche Streptokokken, die aus der Umgebung der Kühe, wo sie z. B. in alten Milchresten, an Gefäßen, im Futter, in der Streu eine saprophytische Existenz führen, oder aus der Luft, mit der sie vielleicht weit verbreitet werden, in die Milch hineingefallen sind.

Niemand wird bestreiten, daß Streptokokken, die von einem Entzündungsprozeß des Melkers oder anderer Personen in die Milch gelangen, unter Umständen wieder die Ursache für Erkrankungen beim Menschen, z. B. eine Angina, abgeben können. Eine derartige Infektion der Milch kommt aber sicher so selten vor, daß sie die Häufigkeit des Befundes von Streptokokken in der Milch nicht erklären kann. Deshalb dürfen diese Streptokokken wohl von vornherein von der Erörterung ausscheiden, und es kommen für uns nur Streptokokken in Betracht, die von gesunden oder euterkranken Rindern oder aus deren Umgebung herrühren.

Bevor ich zu meinen eigenen Untersuchungen komme, möchte ich kurz auf die geschichtliche Entwicklung der beregten Frage eingehen.

Vereinzelte Befunde von Streptokokken in der Milch sind seit langem bekannt. Über massenhaftes und häufiges Vorkommen von Streptokokken in der Marktmilch berichteten zuerst Escherich (1), Jäger (2) und Eastles (3) ungefähr gleichzeitig im Jahre 1899. Jäger sprach die Vermutung aus, daß vielleicht manche Racheninfektion auf streptokokkenhaltige Milch zurückzuführen wäre. Eastles wies Streptokokken in 75 Prozent der Marktmilch nach, desgleichen Escherich nicht nur in jeder Marktmilch, sondern sogar in möglichst aseptisch entnommener Milch. Escherich sprach daher den Verdacht aus, daß die Streptokokkenenteritis, von welcher er gleichzeitig eine Anzahl Fälle beschrieb, aus dem Streptokokkengehalt der Milch erklärt werden müsse. Durch seine Schüler erweiterte er später diese Auffassung dahin, daß die Verbreitung der Streptokokkenenteritis eine sehr große wäre (s. unten) und daß schließlich die Mehrzahl der Sommerdiarrhöen der Kinder auf eine Infektion durch die Streptokokken der Milch zurückzuführen wäre. Die Häufigkeit der Streptokokken in der Milch konnte bald danach auch Beck (4) bestätigen. Er fand Streptokokken in 62·3 Prozent und glaubte deren Pathogenität nicht nur durch intraperitoneale oder subkutane Einspritzung, sondern auch durch Verfütterung an Meerschweinchen und Kaninchen, wobei die Tiere in wenigen Tagen an Peritonitis bzw. schwerster Enteritis zugrunde gingen, nachgewiesen zu haben.

Im Jahre 1903 stellte nun Kruse (5) fest, daß der gewöhnliche Erreger der Milchsäuregärung nicht, wie bisher angenommen war, ein gramnegativer oder positiver Bacillus, sondern ein gramfester Streptococcus ist. Er wies hin auf dessen nahe Verwandtschaft mit dem Strepto-



coccus pyogenes einerseits und dem Streptococcus lanceolatus (Diplococcus pneumoniae) andererseits. Nach seinem Hauptfundort nannte er ihn Streptococcus lacticus. Wenn er auch diesem Streptococcus typische Form und Wachstumseigenschaften zuschrieb, so hob doch auch schon damals Kruse hervor, daß alle Übergänge zu den verwandten beiden Arten unter natürlichen wie künstlichen Bedingungen vorkämen.

Neben diesen vornehmlichen Erregern der Milchsäuregärung gibt es nach Kruse [vgl. auch dessen Allgemeine Mikrobiologie (6)] noch eine Anzahl von Bakterien, die der Milchsäuregärung fähig sind. Zwar kommt diese Fähigkeit auch dem Hueppeschen Bacillus acidi lactici, der mit dem Bact. (lactis) aerogenes (Escherich) identisch ist, zu, doch wird er so selten in Milch gefunden, daß er für die saure Gärung der Milch höchst selten in Frage kommt. Etwas anders verhält es sich mit den langen grampositiven Bazillen, die zur Gruppe des „Bacillus lacticus" (Bac. caucasicus u. dergl.) gehören. Vor allem findet man diese im Kefyr, Mazun, Leben, Yoghurt, d. h. in gewissen Sorten von saurer Milch, die in vielen fremden Ländern als Volksnahrungsmittel dienen. Gewöhnlich kann man freilich neben den langen Bazillen in dieser sauren Milch, ebenso wie in den trockenen Pulvern, Körnern oder flüssigen Präparaten, mit denen sie hergestellt wird, den in jeder Rohmilch enthaltenen Streptococcus lacticus nachweisen. Der Grund für seine Verbreitung scheint zu sein, daß er fast überall vorkommt, nicht nur in süßer und saurer Milch, sondern auch in pflanzlichen Stoffen; z. B. in Gras, Stroh, Sauerkraut, sauren Rübenschnitzeln, im Darmkanal der verschiedensten Tiere, in der Stalluft usw. [vgl. bei Kruse (6)].

Durch die oben erwähnte Feststellung Kruses, die von allen Seiten bestätigt wurde, gewinnen die früheren Beobachtungen über Streptokokken in der Milch ein ganz anderes Aussehen. Es ist nämlich sehr wahrscheinlich, daß die ersten Beobachter auch nur in den seltensten Fällen pyogene Streptokokken in Händen hatten, da eine Verwechselung mit Milchstreptokokken bei Unkenntnis der von Kruse aufgedeckten Verwandtschaft beider Arten leicht vorkommen konnte. Das gilt auch wohl für die Angaben von Petruschky und Kriebel (7) aus dem Jahre 1904, die in der Sommermilch so zahlreiche Streptokokken fanden, daß ein Ausstrich von frischer Milch bakteriell durch ihren Kokkengehalt „fast einem Eiterpräparate glich". Bald darauf wurde die Ansicht Petruschkys, daß die Streptokokken in der Milch die Hauptursache der Sommerdiarrhöe der Kinder wären, einer scharfen Kritik durch Schlossmann (8) und Seiffert auf dem Naturforscherkongreß in Breslau unterzogen. In seinen folgenden Veröffentlichungen wies Petruschky (9a u. b) auf die sich inzwischen mehrenden Angaben über Streptokokken-



mastitis und die Kasuistik über Gesundheitsschädigung durch Milch mastitiskranker Kühe hin und behauptete, die Milch hätte nicht nur im Mikroskop durch ihren Leukozytengehalt ein eiterähnliches Aussehen, sondern ihr hoher Gehalt an Streptokokken sei bedingt durch Eutereiter der Kühe. In seiner letzten Arbeit endlich sagte Petruschky (9c) ausdrücklich, die in der Milch vorhandenen „Streptokokken entstammten fast ausschließlich Krankheitsprozessen des Euters, des Darmes und anderer Körperstellen der Kuh oder aus Krankheitsprozessen des Menschen". Die Streptokokken wirkten hauptsächlich durch ihre Gifte.

Die erste Beobachtung von Streptokokken als Mastitiserreger durch Nocard (10) stammt schon aus dem Jahre 1888; dann folgte Holst (11) 1895 und eine Anzahl anderer Autoren mit Beobachtungen von Gesundheitsschädigung durch den Genuß von Milch mastitiskranker Kühe. Die Diagnose der Streptokokkenmastitis wurde durch die Untersuchungen von Bergey (12) 1904, der einen Parallelismus zwischen Leukozyten- und Streptokokkengehalt der Milch fand, sowie durch die von Trommsdorff (13) und Rullmann (14) 1906 veröffentlichte Milchleukozytenprobe erleichtert.

Durch alle diese Beobachtungen wurde eine Reihe von Hygienikern, Kinderärzten und Tierärzten zu weiteren Studien über die Streptokokken der Milch veranlaßt (15). Da die Befunde äußerst wechselnd und zum Teil widerspruchsvoll waren, habe auch ich auf Veranlassung von Hrn. Prof. Kruse die Frage nach der Herkunft und Pathogenität der Milchstreptokokken noch einmal einer experimentellen Bearbeitung unterzogen.

Was die Morphologie des Streptococcus lacticus anbetrifft, so stimmen die meisten Autoren darin mit Kruse (5) überein, daß er zwar im allgemeinen zum Lanzetttypus neigt, aber doch nicht ausschließlich in dieser Form auftritt und daher mit dem Streptococcus pyogenes wohl verwechselt werden kann. In einer im letzten Jahre erschienenen Arbeit legt Baehr (16) dagegen auf die Lanzettform sowie auf die Neigung zu stäbchenähnlichen Bildungen besonderen Wert. Meine Untersuchungen konnten diese Behauptung Baehrs nur bis zu einem gewissen Grade bestätigen; denn obwohl man zugeben muß, daß die Mehrzahl der aus saurer Milch gewonnenen Streptokokken typische lanzettförmige, häufig stäbchenähnliche Bildungen und kurze Ketten darbietet, so kann man doch oftmals, besonders in älteren Kulturen, lange Ketten vollkommen runder Kokken beobachten; ebenso wie ja auch pyogene Streptokokken umgekehrt, das möchte ich auch hervorheben, wenn sie längere Zeit fortgezüchtet sind, hin und wieder Lanzettform aufweisen können. Ein durchschlagender Charakter ist die verlängerte Form nicht.



Was die Form der Mastitisstreptokokken angeht, so behauptet Ernst (17) nach Erfahrungen an einer großen Anzahl von Milchuntersuchungen (1840 Milchproben), daß sie sich durch Stacketform auszeichneten, und daß man mit Hilfe dieser Form die Diagnose schon aus dem Ausstrich der frischen Milch stellen könne. Seine Angaben stimmen freilich mit den Befunden Walls (18) nicht ganz überein, der als Erreger des gelben Galts drei verschiedene Formen abbildet:

1. Lanzettförmige Diplokokken mit dicker Schleimhülle,
2. lanzettförmige Diplokokken ohne Schleimkapsel in langen Ketten und
3. staketförmige Streptokokken in langen Ketten.

Hr. Tierarzt Gohr, der sich gleichzeitig mit mir mit den Mastitisstreptokokken in unserem Institut beschäftigt hat, konnte die Befunde Ernsts insoweit bestätigen, als die Stacketform im ersten Ausstrich von Mastitiseiter nachgewiesen werden kann und auch in den ersten Kulturgenerationen sich teilweise erhält. Später fand ich aber mit Gohr auch in eitriger Milch manchmal, also ähnlich wie Wall, ausschließlich lanzettförmige Streptokokken. Man könnte versucht sein, diesen Befund so zu erklären, daß in diesen Fällen trotz des klinischen Bildes keine echte chronische Streptokokkenmastitis vorlag, daß es sich vielmehr um eine Infektion mit anderen Bakterien (z. B. Bacterium phlegmasiae uberis, Bacillus tuberculosis usw.) gehandelt hat, oder daß die echten Mastitisstreptokokken zugrunde gegangen, die vorgefundenen Lanzettkokken aber in jedem Falle nur harmlose Schmarotzer waren, die im Zitzenkanal, besonders bei Milchstauung zur Wucherung kommen. Dafür spricht, daß eine Anzahl von Autoren, ich nenne nur Koning (19), Rullmann (20), Trommsdorff (14), Bergey (12), Seibold (21), selbst bei Anwendung von „Melkröhrchen" nur in einem gewissen Prozentsatz (Rullmann (20) in 20 von 84 Fällen) vollkommen keimfreie Milch, in der Mehrzahl aber eine Diplokokken und Streptokokken enthaltende Milch gewonnen haben. Wenn die Annahme übrigens richtig wäre, daß die lanzettförmigen Streptokokken für sich keine Mastitis spontan zu erzeugen imstande sind, dann müßte man verlangen, daß in dem ergriffenen Eutergewebe ausschließlich die Stacketformen zur Beobachtung kämen. Diesbezügliche Untersuchungen konnten leider von Gohr noch nicht völlig zum Abschluß geführt werden.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit gibt Meyer (22) an, daß im frischen Ausstrich die Streptokokkenglieder bei Mastitis „fast durchweg" der Länge nach aneinander gereiht sind, also Lanzettform zeigen, während dann in der Bouillonkultur die Achse der einzelnen Glieder sich quer stellte und nun die Staketform auftrat. Diese Befunde stehen mit unseren



Erfahrungen im Widerspruch. Allerdings trifft man eine Haupteigenschaft der Milchstreptokokken, ihre Variabilität in Größe und Form, ebenfalls, wenn auch in geringerem Grade, bei den Mastitisstreptokokken an. Diese Umwandlung tritt jedoch gewöhnlich erst nach längerem Fortzüchten ein; und dabei fanden sich, oft in einer Kette, fließende Übergänge von der quergestellten in die runde und von dieser in die längsgestellte Form. Das Verhältnis ist also gerade umgekehrt, wie es Meyer beschreibt.

Neben der Morphologie hat man auch das Wachstum auf verschiedenen Nährböden, speziell kohlehydrathaltigen, zur Unterscheidung herangezogen. Diese zur Unterscheidung der Streptokokkenarten angegebenen Nährböden haben den Autoren selbst [Baumann (23), Salomon (24), Winslow und Palmer (25), Todd (26)] so unsichere Resultate ergeben, daß wir deshalb auf ihre Nachprüfung verzichteten. Auch Ernst (17) u. a. legen diesen Charakteren keinen maßgebenden Wert bei.

Das Säurebildungsvermögen in Milch ist weiterhin zur Artunterscheidung herangezogen worden. Nach einer Reihe von Autoren, beispielsweise nach P. Th. Müller (27) und Baehr (16) tritt in sterilisierter Milch beim Streptococcus lacticus die Gerinnung fast stets in 24 Stunden ein, während von pathologischen Prozessen des Menschen stammende pyogene Streptokokken meistens erst in 72 Stunden Milch zur Gerinnung brachten. Im allgemeinen kann ich dies bestätigen, muß aber wie schon früher Kruse (s. oben) betonen, daß auch typische Stämme des Streptococcus lacticus oft die Milch nur sehr langsam zur Gerinnung brachten, während umgekehrt manche pyogene Streptokokken schnell die Gerinnung bewirkten (s. unten). Ein Fehlen der zur Gerinnung nötigen Säurebildung behauptete Wall (18) gerade für die Mastitisstreptokokken. In unseren Fällen haben sie meistens die Milch koaguliert, allerdings etwas langsamer, wodurch sie sich den pyogenen Streptokokken des Menschen näherten. Wie jedoch schon eben hervorgehoben, besteht auch hierbei kein durchgreifender Unterschied [Kitt (28) u. a.].

Die Autoren, die sich mit der Agglutination der Milchstreptokokken beschäftigten, z. B. Müller (27), Nieter (29), Jehle (30) und Pincherle (31) hatten so verschiedene Resultate, daß auch anscheinend darauf keine Artunterscheidung begründet werden kann.

Die größte Aussicht auf Erfolg hat nach den Angaben der Autoren die Hämolyse. Mit Ausnahme von Müller (27), der keinen Unterschied in der Hämolyse fand, stimmen die übrigen Autoren darin überein, daß die Milchstreptokokken, wenn überhaupt, nur Spuren von Hämolyse zeigten, während die allermeisten aus pathologischen Prozessen beim



Menschen gewonnenen Streptokokken eine erhebliche hämolytische Fähigkeit an den Tag legten. So sahen Nieter (29) und Baehr (16) bei sämtlichen untersuchten Milchstreptokokken niemals Hämolyse. Baumann (23) fand nur 2 von 13 Milchstreptokokken spurweise hämolytisch, während die menschlichen pyogenen Streptokokken fast sämtlich Hämolyse erzeugten. Nach diesen Erfahrungen war ich einigermaßen erstaunt, bei einer Anzahl meiner Milchstreptokokken zunächst eine gewisse Hämolyse zu finden, die allerdings nicht wie bei hämolytischen Menschenstreptokokken nach 24 bis 48 Stunden, sondern etwa nach 72 bis 96 Stunden ihren Höhepunkt erreichte und auch bei gewöhnlicher Zimmertemperatur noch eine gewisse Zunahme zeigte. In welcher Weise sich diese abweichenden Resultate aufklären, wird man am besten ans den Untersuchungsprotokollen ersehen.

Eigene Untersuchungen.[1]

I. Vorversuch.

Es wurden zunächst von 12 Kühen eines Stalles in folgender Weise Milchproben gewonnen. Der Schweizer, der sich vor und nach dem Melken jeder Kuh die Hände wusch, melkte ungefähr gleiche Mengen aus allen vier Zitzen in ein steriles Erlenmeyerkölbchen; und zwar wurde die Milch aus der Mitte des Gemelkes, wo erfahrungsgemäß die Keimzahl am geringsten ist, entnommen. Die Milch wurde gleich danach im Institut in sterilen Spitzgläschen zentrifugiert und das Sediment nach Abschütten der Milch auf Farbe und Menge beurteilt sowie mikroskopisch untersucht. Alsdann wurde das Sediment mit steriler Nährbouillon übergossen. Von diesem Gemisch wurden durch Überimpfen von 1 bis 3 Platinösen in zwei weitere Bouillonröhrchen Verdünnungen angelegt. Dies geschah, um möglichst einzelne Keime zu übertragen. Nach 24 Stunden Bebrütung (bei 37° C) wurde ein Tropfen auf je einer v. Drygalskischen Milchzuckeragarplatte und einer Ziegenblutagarplatte mit dem von Kruse (32) angegebenen Platinpinsel ausgestrichen. Diese Methode, die mir, selbst bei keimreichstem Ausgangsmaterial, die Isolierung einzelner Kolonien ermöglichte, möchte ich mit wenigen Worten beschreiben. Eine geringe Menge des Materials wird auf die eine Seite der Platte gebracht und mit dem flach aufgesetzten (nicht mit den Spitzen) Platinpinsel auf einem Drittel der Platte ausgestrichen. Nach Ausglühen und Erkalten des Pinsels nimmt man von dieser ersten Verdünnung durch einmaliges Herüberstreichen eine geringe Menge ab, die auf dem zweiten Drittel der Platte ausgestrichen wird. In gleicher Weise erfolgt die Übertragung des Materials von dem zweiten auf das letzte Drittel der Platte. In diesem letzten Drittel gehen dann einzelne Kolonien auf. Der Vorteil der Methode besteht in Zeit- und Nährbodenersparnis und in der Möglichkeit, sie auch auf Platten aus spröderem Material wie Gelatine und Serum zu verwenden, wo man mit der flach aufgesetzten Öse nicht gut zum Ziel kommt.

[1] Die Untersuchungen fanden fast sämtlich im Sommerhalbjahr 1910 statt.



Tabelle I.

Lfd. Nr.	Nummer der Kuh	Bodensatz	Milchzuckerlackmusagar	Ziegenblutagar	Bouillon (mikr.)
1	12	wenig, weißlich, mikr. vereinzelte Leukozyten, keine Bakterien	feinste, noch nicht sandkorngroße, opake, nicht Säure bildende Tröpfchen	feinste graue, tröpfchenförmige Kolonien (Spur Hämolyse)	Diplokokken
2	173	sehr wenig, weißlich, mikr. wie Nr. 1	kleine opake Tröpfchen, röten den Nährboden	bis stecknadelkopfgroße, graue, schleimige Tröpfchen, wenig hämolytisch, daneben wenige nicht hämolytische	Diplokokken, einzeln und in kurzen Ketten, in Größe und Form verschieden
3	102	gering, hellgelb (!), mikr. etwas vermehrte Leukozyten, einige Lymphozyten verschiedener Größe, vereinzelte Kokken	feinste graue und opake Tröpfchen, Säure bildend	tröpfchenförmige, konfluierende, teils schwach hämol., teils anhämol. Kolonien	sehr ungleichmäßig gestaltete, oft bazillenartig verlängerte, an den Enden zugespitzte Diplokokken in kurzen Ketten
4	3	gering, grau, mikr. zahlr. Leukozyten und Epithelien, keine Bakterien	sehr zarte, opake, etwas säuernde Tröpfchen	feinste Tröpfchen, zunächst schwach, nach Tagen bei Zimmertemperatur deutlich hämolysierend	sehr zarte Diplokokken in langen Ketten
5	164	sehr gering, weiß, mikr. wenige Leukozyten, steril	feinste graue, den Nährboden rötende Tröpfchen	kleinste, flache, graue, teils anhäm., teils Spur hämolyt. Tröpfchen	polymorphe Diplokokken, einzeln u. in kurzen Ketten
6	168	gering, weiß, mikr. Leukozyten vermehrt, keine Bakterien	feinste graue Tröpfchen, säurebildend	feinste graue Tröpfchen, Spur Hämolyse	Übergänge von runden Diplokokken z. Diplobazillen, teils paarweise, teils in mittellangen Ketten

Tabelle I. (Fortsetzung.)

Lfd. Nr.	Nummer der Kuh	Bodensatz	Milchzuckerlackmusagar	Ziegenblutagar	Bouillon (mikr.)
7	106	vermehrt, gelblich, mikr. sehr zahlreiche Leukozyten, reichliche Diplokokken, einzeln und in kurzen Ketten und Träubchen	sehr schwach säuernde, feinste tröpfchenförmige, opake Kolonien	anhämolyt. feinste durchscheinende, wenig opake Tröpfchen	lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
8	7	gering, gelb, mikr. Leukozyten, etwas vermehrt, bakterienfrei	schwach saure, feinste Tröpfchen	feinste graue, opake Tröpfchen, Spur Hämolyse	lanzettförmige, polymorphe Diplokokk. in kurzen Ketten
9[1]	5	vermehrt, gelblich, mikr. sehr zahlreiche Leukozyten, keine Bakterien	schwach saure, feinste Tröpfchen	teils schwach hämolytische, teils anhäm. Tröpfchen	kurze Ketten zarter und lange Ketten großer Diplokokken
10	6	vermehrt, rötlich, mikr. Leukozyten, Blutzellen, keine Bakterien	feinste zart rosa gefärbte Tröpfchen	feinster Tau, anhämolyt. Tröpfchen	verschieden große Diplokokken in kurzen Ketten
11	175	gering, weiß, mikr. wenig Leukozyten, steril.	feinste, grau durchscheinende Tröpfchen, schwache Säurebildung	schwach hämolyt. feinste Tröpfchen	Diplokokk., einzeln und in kurzen Ketten, oft gequollen oder bazillenartig gestreckte Individuen
12	4	gering, weiß, mikr. ganz vereinzelte Leukozyten, keine Bakterien	nicht säuernde feinste graue Tröpfchen	anhämolyt. Tröpfchen	zum Teil riesenhafte plumpe Diplokokken in langen Ketten

[1] Diese Kuh war vor einiger Zeit euterkrank (nach Aussage des Schweizers).

Die so gewonnenen isolierten Kolonien, die sich unter dem Mikroskop als fein granulierte, teils unregelmäßige, teils auch regelmäßige und runde Tröpfchen erwiesen, wurden in einzelnen Exemplaren in Bouillon überimpft. Dabei zeigten die Ausgangsplatten Mischungen von Streptokokken und weißen und gelben Staphylokokken[1]. Die Bouillon war nur in einem Falle klar mit dickem Bodensatz (Kuh 164), in allen anderen Fällen diffus getrübt. In einigen Fällen konnten anhämolytische und hämolytische (s. unten) Streptokokken isoliert werden (Kuh 3, 5, 102). Auf Gelatine wuchsen sämtliche Streptokokken als feine, kaum graue, durchscheinende Tautröpfchen ohne Verflüssigung. Im Gelatinestich zeigten sie feinste grauweiße Körnchen längs des Stichkanals, keine Verflüssigung. Auf Agar war das Wachstum ähnlich wie auf Gelatine, nur erreichten die Streptokokkenkolonien bei längerem Wachstum oft die fünffache Größe von Menschenstreptokokken. Genauere Angaben über das mikroskopische Bild, das auf allen Nährböden ziemlich gleiche Verhältnisse darbot, siehe Tabelle I.

Aus der Tabelle I ersieht man, daß ein erheblicher Prozentsatz der Streptokokken auf Ziegenblutagar zunächst nach 24 Stunden eine Spur Hämolyse zeigte. Diese Hämolyse nahm, wie oben schon erwähnt, bei Zimmertemperatur entsprechend der Fortdauer des Wachstums allmählich zu und erzeugte dann eine Aufhellung des Blutnährbodens anscheinend in einer Entfernung von 2 bis 3 ^{mm} von der Kolonie. Es bestand jedoch folgender Unterschied. Die pyogenen Streptokokken des Menschen wachsen als feinste farblose, selten auch eben graue Pünktchen, die sich bei Zimmertemperatur nicht mehr merklich vergrößern. Die hämolytischen Milchstreptokokken wachsen bis zu stecknadelkopfgroßen flachen Tröpfchen heran, die im Zentrum einen grauweißen, etwas erhabenen Punkt zeigen. Diese graue Trübung des Zentrums hellt sich gegen den Rand allmählich auf, wo die Kolonie durchscheinend wird. Dabei zeigt sich, daß die hämolytische Fähigkeit nur wenig über den Rand der einzelnen Kolonien hinausgeht. Auf Lackmusagar zeigen die Milchstreptokokken bei längerem Stehen ebenfalls eine von den Menschenstreptokokken verschiedene Größenzunahme.

Da wider Erwarten Hämolyse auf dem Blutnährboden eingetreten war, wurde an die Möglichkeit gedacht, daß vielleicht die Tierart, von der das Blut stammte, für den Eintritt der Hämolyse von Bedeutung wäre. Es wurden daher zu gleicher Zeit und von dem gleichen Ausgangsmaterial Platten von Menschen- (Nabelschnurblut), Kaninchen-, Rinder- und Ziegenblut geprüft.

[1] Diese Kolonien unterschieden sich zunächst in Größe und Farbe kaum von den Streptokokkenkolonien, wuchsen dann aber bei Zimmertemperatur in einigen Tagen unter Pigmentbildung zu größeren Tröpfchen heran. Eine Anzahl zeigte starke Hämolyse; alle verflüssigten Gelatine.



Tabelle II.
(Vgl. Tab. I.)
Hämolyse der Kuhstreptokokken.

Lfd. Nr.	Bezeichnung der Kultur	Rind	Ziege	Kaninchen	Mensch
1	a) 173 anhäm.	—	—	—	—
	b) 173 schwach häm.	—	—	—	—
2	a) 102 anhäm.	—	—	—	—
	b) 102 häm.	—	—	—	—
3	a) 3 stark häm.	+ + —	+ + —	+ — —	+ — —
	b) 3 x anhäm.	—	—	—	—
	c) 3 y stark häm.	+ + —	+ + +	+ — —	+ — —[1]
4	164 anhäm.	—	—	—	—
5	168 häm.	+ — —	+ + —	+ — — (bis —)	—
6	106 anhäm.	—	—	—	—
7	7 Str. lac. anhäm.	—	—	—	—
8	a) 5 Lack. häm.	+ — —	+ — —	+ — — (bis —)	—
	b) 5 häm.	+ — —	+ — —	+ — — (bis —)	—
	c) 5 Lack. anhäm.	—	—	—	—
	d) 5 anhäm.	—	—	—	—
9	6 anhäm.	—	—	—	—
10	175 anhäm.	—	—	—	—
11	4 anhäm.	—	—	—	—

Zeichenerklärung:
+ + + = sehr stark + + — = stark
+ — — = Spur — = keine Hämolyse.

Aus Tabelle II ersieht man, daß von 18 Stämmen 7 in der ersten Kultur Hämolyse gezeigt hatten; sie tragen neben der Nummer der Kuh die Bezeichnung „häm." Von diesen 7 Stämmen hatten 2, die in der ersten Kultur auf Ziegenblutagar Hämolyse gezeigt hatten, diese Fähigkeit schon in der zweiten Kultur auch gegenüber Ziegenblutagar verloren (1b, 2b). Es blieben noch 5 Stämme, von denen auf Menschenblutagar nur 2 (3a, 3c) eine Spur Hämolyse zeigten, die übrigen 3 (5, 8a, 8b) vollkommen anhämolytisch waren. Bei sämtlichen

[1] Umrandung des breiten Ausstrichs und ebenso der einzelnen Kolonien durch eine ungemein dünne helle Zone, auf die nach außen hin eine über 1 mm breite dunklere Zone folgt.

5 Stämmen war die Hämolyse also auf Tierblut stärker ausgebildet als auf Menschenblut; die stärkste Hämolyse war auf Ziegenblutagar eingetreten, dann nahm sie in der Reihenfolge Rind, Kaninchen, Mensch ab.

Tabelle III.

Säurebildung und mikroskopischer Befund in Lackmusmilch.

Lfd. Nr.	Streptokokken	Nach 2 Tagen	Nach 4 Tagen	Mikroskopisches Bild
1	173 schwach häm.	++—	++—	pneumokokkenähnliche, lanzettförmige Diplokokken mit zarter Kapsel
	173 Bl. anhäm.	—	+——	kurze Streptokokkenketten sehr zarter Kokken
2	102 häm.	—	+++	kurze Ketten von runden, sehr zarten Diplokokken
	102 anhäm.	—	++—	kurze und lange Ketten sehr kleiner Kokken
3	3 stark häm.	++—	++—	lange Ketten sehr zarter Kokken, einzelne Individuen erheblich gequollen
	3 x anhäm.	++—	++—	kurze Ketten zarter Kokken
	3 y stark häm.	++—	++—	lange Ketten von zarten Kokken
4	164 Bl. anhäm.	—	—	kurze Ketten von Streptokokken
5	168 häm.	++—	+++	lange gewundene Ketten von zarten, runden Streptokokken
6	106 Lack. anhäm.	—	++—	kurze Ketten sehr zarter, lanzettförmiger Diplokokken, oft mit zarter Kapsel
7	7 anhäm.	++—	+++	kurze und lange gewundene Ketten zarter Streptokokken
8	5 häm.	+——	+++	kurze und längere Ketten zarter, meistens runder Streptokokken, daneben aber auch stäbchenartige und ödematöse Formen
	5 Lack. anhäm.	—	++—	
	5 anhäm.	—	++—	
9	6 Bl. anhäm.	—	+——	kurze Ketten, gut gefärbt, rundliche scheibenförmige und lanzettförmige Elemente, oft gequollene kegelförmige Bildungen
10	175 anhäm.	—	—	lange Ketten zarter lanzettförmiger Streptokokken
11	4 Bl. anhäm.	—	++—	lange Ketten von sehr zarten Streptokokken, Form rundlich bis lanzettförmig, zarte Kapsel

Zeichenerklärung:

+++ = geronnen, rot.
++— = halb geronnen, rot.
+—— = gerötet, aber nicht geronnen.
— = unverändert.



Weiter wurde noch die Fähigkeit der Streptokokken, die Lackmusmilch durch Säurebildung zu röten und zur Gerinnung zu bringen, geprüft und der mikroskopische Befund erhoben (s. Tabelle III).

Aus Tabelle III ergibt sich, daß in 4 von 17 Fällen in spätestens vier Tagen eine vollkommene Gerinnung der Lackmusmilch unter Rötung des Nährbodens eingetreten war; in 9 Fällen war die Milch zur Hälfte geronnen; in 2 Fällen war es zwar zur Rötung, aber nicht zur Gerinnung der Milch gekommen, in 2 Fällen war keine erkennbare Säuremenge gebildet: Die Lackmusmilch war in Farbe und Konsistenz unverändert. Was das mikroskopische Bild anbetrifft, so fanden sich fast durchweg kurze Ketten sehr zarter, winziger Kokken von lanzettlicher, aber auch runder und scheibenförmiger Gestalt. Öfters kamen gequollene monströse Degenerationsformen zur Beobachtung.

II. Versuchsreihe.

Nach diesem Vorversuch wird nochmals Milch von 12 Kühen aus demselben Stalle wie das erstemal entnommen. Um aber dem Einwand zu begegnen, die hämolytischen Keime könnten von dem Melker stammen, erhält dieser sterile Gummihandschuhe, die er nach jedem Melken mit Wasser gründlich reinigt. Sonst dieselbe Entnahme aus der Mitte des Gemelkes und aus allen vier Zitzen jeder Kuh in sterile Erlenmeyerkölbchen. Die weitere Bearbeitung wurde nach folgendem Plane vorgenommen: Sofort nach dem Eintreffen wurde die Milch in graduierten Spitzgläschen zentrifugiert und der Bodensatz abgelesen; darauf wurde die Milch in zwei Hälften in sterile Reagenzröhrchen gegossen und in den Brutschrank von 22° bzw. 37° gestellt. Vom Bodensatz wurden Ausstrichpräparate angefertigt, eine Platinöse auf einer Blutplatte, die dann bei 37° bebrütet wurde, ausgepinselt und endlich der Rest des Bodensatzes nach Möglichkeit mit Lackmusmilch gemischt und in zwei Röhrchen in den Brutschrank zu 22° bzw. 37° gestellt. Von der nichtzentrifugierten Milch wurde nach gutem Umschütteln ein Tropfen auf eine Gelatineplatte zur Keimzählung ausgegossen. Da die Hämolyse der Streptokokken, wie man von den menschlichen Streptokokken annimmt [Zangemeister (33), Natwig (34)], in gewissem Grade durch das Wachstum auf Wunden begünstigt wird, achtete ich bei der Entnahme der Milch besonders auf etwaige Schrunden oder Geschwüre an den Zitzen.

Die Tabelle IV gibt eine Übersicht über die zunächst erhobenen Befunde. In 5 Fällen fand sich ein Leukozytensediment von 1 und mehr bis zu 5 Promille; dementsprechend verhielt sich auch die Keimzahl; dieselbe schnellte bei einem Bodensatz von 5 Promille auf die hohe Zahl von 334800 im Kubikzentimeter in die Höhe, während bei einer anderen Kuh, deren Milch kein Sediment zeigte, nur 840 Keime gefunden wurden.



Tabelle IV.

Lfd. Nr.	Nummer der Kuh	Bodensatz	Keimzahl (im ccm)	Arten der Keime auf Blutagar (Ziege) aus einer Öse Bodensatz
1	3[1]	0·5 Promille, weißlich, mikr. etwas vermehrte Leukozyten, selten intrazelluläre Kokken	2·480	16 stecknadelkopfgroße, stark häm. Kolonien, 12 anhäm. große Kolonien
2	4	Spur, weißlich, mikr. Leukozyten vermehrt, intrazelluläre Diplokokkenketten	840	12 anhäm. feinste Pünktchen
3	5	1 Promille, gelblich, mikr. Leukozyten vermehrt, intrazelluläre Diplokokkenketten	32·240	78 graue opake, unregelmäßige, anhäm. flache, glänzende Tröpfchen von Stecknadelkopfgröße
4	6[1]	Spur, weißlich, leicht rötlich, mikr. sehr wenige Leukozyten, vereinz. Diplokokken	7·060	etwa 30 große, grauweiß anhäm. und 3 kleinste, grau glänzende anhäm. Tröpfchen
5	7	Spur, gelbweiß, mikr. wenig Leukozyten, keine Bakterien	2·100	16 kleine, grau opake, wenig häm. Kolonien u. 7 bis hirsekorngroße weiße Tropfen
6	102	1 Promille, weiß, mikr. geringe Zahl von Leukozyten, keine Bakterien	10·540	20 häm. durchscheinende, im Zentrum graue tröpfchenförmige und 30 grauweiße große Kolonien
7	106	2 Promille, gelb, mikr. fast reiner Eiter, wimmelt von großen Diplokokk., meistens in kurzen u. längeren Ketten, häufig intrazellulär	54·560	unzählige anhäm. bis stecknadelkopfgroße, glänzende Tröpfchen, am Rande durchscheinend, im Zentrum grau, daneben einige grauweiße u. gelbe erhabene Kolonien
8	164[1]	0·5 Promille, weiß, mäßige Zahl von Leukozyten, keine Bakterien	6·200	wenige, grau opake, flache Spur häm., daneben eine Anzahl grauer u. weißer großer Kolonien
9	168	1·5 Promille, gelbweiß, Leukozyten etwas vermehrt, keine Bakterien	2·976	10 schwach häm. flache bis stecknadelkopfgroße, graue opake Tröpfchen
10	170[2]	5 Promille, gelb, leicht bräunlich, mikrosk. reiner Eiter, Streptokokkenketten häufig in großen Leukozyten	334·800 (!)	dicht gesäter Rasen allerfeinster graugrüner, mäßig häm. Tröpfchen
11	173	Spur, gelblich, mikr. wenige Leukozyten, keine Bakterien	1·240	4 feinste graue, anhäm. Tröpfchen
12	176[1]	Spur, weißlich, mikr. ganz vereinzelte Zellen, keine Bakterien	16·120	6 kleinste graue, durchscheinende flache, schwach häm. u. 20 große anhäm. graue Kolonien

[1] Diese Kuh hat Schrunden.

[2] Die Kuh hat vor 2 Tagen gekalbt. Kollostrum, keine Gebrauchsmilch. Euter geschwollen, gerötet, heiß, sehr schmerzhaft. Temp. 40°. Beginnende Mastitis?



Nur in der Hälfte der Fälle konnte im frischen Ausstrich des Sediments Bakterien mikroskopisch nachgewiesen werden. Bei der Kuh, die sich durch den hohen Leukozytenwert auszeichnete, sprach das klinische Bild für eine beginnende Mastitis; in vier anderen Fällen konnte ich Schrunden finden.

Um die Herkunft der hämolytischen Keime und deren Zusammenhang mit Gewebsläsionen festzustellen, wurde von den vier Kühen, die mit Schrunden behaftet waren, von den Schrunden direkt mit der Platinöse in Bouillon geimpft und diese Bouillonkultur dann auf Ziegenblutagar verpinselt mit folgendem Ergebnis:

Tabelle V.

Aussehen der Kolonien auf Ziegenblutagar.

Lfd. Nr.	Nr. der Kuh	
1	3	schwach hämolytische, kleinste opake Tröpfchen.
2	6	anhämolytische kleinste opake Tröpfchen.
3	164	anhämolytische kleinste opake Tröpfchen.
4	175	ungemein zarter Rasen, den Nährboden grünlich verfärbend.

Es fand sich demnach nur in einem von vier Fällen eine schwache Hämolyse selbst auf Ziegenblutagar.

In Tabelle VI sind die Untersuchungen wiedergegeben, die sich mit dem Wachstum der Milchstreptokokken bei 22 und 37° in bezug auf Säurebildung und etwa dabei auftretende verschiedene mikroskopische Formen beschäftigten.

Aus derselben ergibt sich, wie auch schon aus der früheren Tabelle III, daß eine große Zahl der Streptokokken nicht die in erster Linie erwartete Lanzettform hatte, sondern daß auch viele runde Streptokokken zur Beobachtung kamen. Ein Überwiegen der (saprophytischen?) lanzettförmigen Streptokokken in der nur bei 22° aufbewahrten Milch gegenüber den an Körperwärme gewöhnten etwaigen pathogenen (runden) Streptokokken zeigte sich nur angedeutet.

In zwei Fällen (2, 11) war es offenbar in 72 Stunden bei 22° nicht zur Wucherung der an sich spärlichen Keime gekommen, es waren vielmehr auch diese noch abgestorben: Die Lackmusmilch war blau und flüssig geblieben, auch mikroskopisch konnten keine Bakterien mehr gefunden werden.

Tabelle VI.

Verhalten der Milchproben nach 72 Stunden bei 22 und 37° C.

Lfd. Nr.	Nummer der Kuh	Kalte Milch (22°)	Kalte Lackmusmilch (22°)	Warme Milch (37°)	Warme Lackmusmilch (37°)
1	3	nicht geronnen, erst nach 5 Tagen mikr. Staphylok. und Streptokokken	wenig gerötet, flüssig, mikr. semmelförmige, spärliche Diplokokken	klumpig geronnen, mikr. lanzettförmige Streptokokk., wenige Diplokokken	rot, geronnen, mikr. lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten, Streptokokk.
2	4	nicht geronnen, mikr. steril	blauflüssig, mikr. steril	geronnen, mikr. Diplokokken, öfters in Ketten Staphylokokken	zu ¹/₃ geronnen, mikr. meistens Diplokokken, nicht deutlich lanzettförmig
3	5	feinflockig geronnen, mikr. lanzettförmige, die in Ketten mehr rundlich sind	zu ³/₄ entfärbt, das obere Viertel hellrot, vollkommen geronnen, mikr. lanzettförm. Diplokokken, teilweise bazillenähnlich	klumpig geronnen, mikr. lanzettförmige Diplokokken, daneben Ketten, deren Elemente teils lanzettförmig, teils rund sind	hochrot geronnen, mikr. rundliche Diplokokken in kurzen Ketten
4	6	nicht geronnen, gerinnt erst nach 4 Tagen, grobflockig, mikr. große Diplokokken, runde Streptokokken in kurzen Ketten	Spur sauer, nicht geronnen, mikr. große runde Diplokokken, einzeln und in Träubchen	klumpig geronnen, mikr. zarte runde Streptokokken in kurzen Ketten, Staphylokokken	hochrot geronnen, mikr. lange Ketten zarter runder Streptokokken, daneben runde Diplokokken
5	7	kleinflockig geronnen, mikr. sehr zarte lanzettförmige Diplokkoken, Streptokokken, Stäbchen	etwas gerötet, nicht geronnen, mikr. seltene gramnegative Stäbchen	geronnen, mikr. ungemein zarte Diplokokken in langen Ketten, daneben Staphylokokken	hochrot geronnen, mikr. lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
6	102	nicht geronnen, gerinnt nach 4 Tagen, mikr. Staphylokokken	am Boden schwach sauer, nicht geronnen, mikr. Staphylokokken, ganz vereinzelte kurze Streptokokken	geronnen, kurze Ketten runder Streptokokken, daneben lanzettförmige Diplokokken	hochrot geronnen, mikr. lange Ketten sehr zarter Streptokokken

7	106	grobflockig geronnen, mikr. sehr zarte runde Streptokokken, daneben lanzettförmige zarte Diplokokken	mäßig sauer, geringer, geronnener Bodensatz, mikr. zarte Diplok., oft in Form von Stäbchen, Diplobazillen. Daneben kurze Ketten sehr zarter runder Streptokokk.	geronnen, mikr. große runde Streptokokken in kurzen Ketten, zarte lanzettförmige Diplokokken	hochrot gronnen, mikr. kurze Ketten runder Diplokokken
8	164	nicht geronnen, erst nach mehreren Tagen, mikr. ungemein zarte lanzettförmige Diplokokken, sehr häufig Stäbchenform, in kürzeren Ketten und Klümpchen	nur am Boden schwach sauer, flüssig, mikr. sehr zarte Diplokokken, einzeln, selten in kurzen Ketten, häufig stäbchenähnliche Bildungen	geronnen, mikr. sehr zarte lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten u. Pseudoträubchen, d. h. Kettenkonvoluten	hochrot geronnen, runde, selten lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
9	168	grobflockig geronnen, mikr. lanzettförmige Diplokokken, einzeln, in Haufen u. kurzen Ketten, öfter stäbchenähnl. Form	geronnen, zu $^{3}/_{4}$ entfärbt, das oberste Viertel hellrot, mikr. zarte lanzettförmige Diplokokk. in kurzen Ketten	geronnen, mikr. Staphylokokken, kurze Streptokokkenketten, lanzettförmige Streptokokken verschiedener Größe und Länge	geronnen, zu $^{3}/_{4}$ entfärbt, das oberste Viertel hellrot gefärbt, mikr. runde Streptokokken in kurzen u. längeren Ketten, daneben lanzettförm. Diplok. in mittellang. Ketten
10	170	feinflockig geronnen, mikr. zarte Streptokokken in kurzen Ketten, daneben lanzettförmige Diplokokken	ganz geringer weißer Bodensatz, darüber geringe Rötung, keine Gerinnung, mikr. ungemein zarte runde Streptok. in kurzen Ketten	geronnen, mikr. sehr zarte Streptokokken mit runden einzelnen Individuen, daneben wenige Staphylok.	hochrot, zu $^{1}/_{4}$ geronnen, mikr. sehr zarte runde Strept. in kurzen Ketten, daneben zarte lanzettförmige Diplokokken in geringer Anzahl
11	173	nicht geronnen, mikr. Staphylokokken, daneben wenig zarte, runde Streptokokken in kurzen Ketten	nur am Boden ein wenig gerötet, flüssig, mikr. steril	geronnen, mikr. lanzettförm. und runde zarte Diplokokk. in kurzen Ketten, Staphylokokken	hochrot geronnen, mikr. runde Streptokokken in kurzen Ketten, ganz winzige lanzettförmige Diplokokken, große semmelförmige Diplokokken
12	175	nicht geronnen, mikr. selten kleine runde Diplokokken	schwach sauer, mikr. Staphylokokken	geronnen, kurze Ketten zarter runder Streptokokken, zarte lanzettförmige Diplokokken, Staphylokokken	hochrot geronnen, mikr. runde Streptokokken, z. T. in längeren Ketten, daneben zarte, lanzettförmige Diplokokken und einige größere semmelförm. Diplokokken

In einer weiteren Versuchsreihe konnte ich eine Begünstigung des Wachstums von hämolytischen Streptokokken in der bei 37° gehaltenen Milch nicht feststellen. Es wurde zu diesem Zweck aus jedem der vier Röhrchen aller 12 Milchproben Material auf Blutagarplatten von Menschen-, Kaninchen-, Rinder- und Ziegenblut aufgepinselt. In den Fällen, wo hämolytische Streptokokken gefunden wurden, zeigte sich wiederum ein leichteres Reagieren auf Ziegenblut, während Menschenblut höchstens in Spuren Hämolyse aufwies. Von den oben genannten 12 × 16 (192) Blutplatten wurden Streptokokkenkolonien, soweit sie gut isolierbar waren, in Bouillon abgestochen; auch die von Schrunden gezüchteten sowie die von dem Milchsediment auf Blutagar isolierten Streptokokken wurden in Bouillon übertragen. Die Bouillon erwies sich dabei teils klar mit starkem flockig krümeligen oder schleimigen Bodensatz, teils diffus getrübt.

Weiter wurden Streptokokken, die von menschlichen Erkrankungen stammten, zugleich mit einer großen Anzahl Milchstreptokokken auf ihr Verhalten gegenüber den vier Blutarten geprüft. Hierbei bediente ich mich der bei den Geburtshelfern üblichen Methode, die darin besteht, daß eine Öse des Materials in einem Strich über die Blutplatte verteilt wird. Diese Methode, die sich nur für Reinkulturen eignet, erlaubt etwa 10 Stämme nebeneinander auf einer Platte zu untersuchen, erspart also Zeit und Nährmaterial.

Die Resultate dieser eben beschriebenen Prüfung auf Hämolyse sind auf Tabelle VII und VIII verzeichnet.

Auf den einzelnen Blutarten zeigte sich auch diesmal vielfach eine verschiedene Stärke der Hämolyse.

20 hämolytische, aus menschlichen Erkrankungen gezüchtete Streptokokken, die mir in liebenswürdiger Weise von Hrn. Privatdozenten Dr. Bürgers überlassen wurden, verhielten sich in folgender Weise: Die stärkste Hämolyse trat auf Ziegenblutagar ein, die schwächste auf Menschenblutagar. Dazwischen standen dem Grad der Hämolyse nach Kaninchen- und Rinderblut, wobei es den Anschein hatte, als wenn Kaninchenblut schwächer als Rinderblut reagierte. Fast durchweg war eine starke bis sehr starke Hämolyse eingetreten. Bei einigen Stämmen trat der verschiedene Grad der Hämolyse besonders stark hervor; allerdings müssen Ausnahmen erwähnt werden, in denen menschliche Streptokokken nicht die sonst auch bei ihnen beobachtete Reihenfolge der Blutarten zeigten. So war ein Stamm (1) stark hämolytisch auf Rinderblut, auf Menschen- und Ziegenblut anhämolytisch; ein anderer Stamm (15) dagegen war ausschließlich auf Menschenblutagar hämolytisch. Ein dritter Stamm (18) endlich war auf Rinderblut nur spurweise hämolytisch,

Tabelle VII.
Vom Menschen stammende Streptokokken.

Lfd. Nr.	Stamm	Mensch	Kaninchen	Rind	Ziege
1	Imme	—	nicht gewachsen	+++	—
2	Schering	+	+	+++	+++
3	Schering-Passage	+	+++	+++	+++
4	S. 34	+++	+++	+++	++++
5	Wr.	+++	+++	++++	++++
6	Gross	++++	++++	+++	++++
7	Tollkühn	+++	++++	++++	++++
8	Iwohn, neu	++++	+++	++++	++++
9	Iwohn, alt	+++	+++	+++	+++
10	Schomski	+++	+++	++++	++++
11	Bgs. 337	+++	++++	++++	++++
12	Haak	+++	++++	++++	++++
13	54 p.	++	+++	+++	++++
14	Osteomyelitis	+++	+++	++++	++++
15	Tomascheites	+++	—	—	—
16	S. h. 1	+++	+++	++++	++++
17	Liebe Blut	++++	++++	+++	+++
18	Tressel	+++	+++	+	++++
19	Junkeit	++	++++	+++	++++
20	Rems	++++	+++	++++	++++

++++ = sehr starke Hämolyse. +++ = starke Hämolyse.
++ = mäßige Hämolyse. + = Spur Hämolyse. — = keine Hämolyse.

Tabelle VIII.
Streptokokken aus Milch.

Lfd. Nr.	Stamm	Mensch	Kaninchen	Rind	Ziege
1	3 y alt	+	—	—	—
2	3 m. K. M. häm.	+	+	+	+
3	3 m. w. M. häm.	+	++	++	++
4	3 l. K. M. häm.	+	+++	++	++
5	3 Schrunde	+	+++	++	++
6	3 l. K. R. häm.	+	+++	++	++
7	3 m. w. R. häm.	+	++	++	++
8	5 m. K. M. häm.	—	—	+	—
9	5 m. K. M. anh.	—	—	+	—
10	5 l. K. M. häm.	—	—	+	—
11	5 m. K. R.	+	++	++	+
12	5 l. w. R. häm.	+	++	++	++



Tabelle VIII.

(Fortsetzung.)

Lfd. Nr.	Stamm	Mensch	Kaninchen	Rind	Ziege
13	5 l. K. R.	—	—	—	—
14	5 l. w. M. häm.. . . .	+	+ +	+	+ +
15	5 häm. Sed.	+	+ +	+	+ +
16	5 m. w. R. häm. . . .	—	—	—	—
17	5 m. w. M. häm. . . .	—	—	—	—
18	6 m. w. R.	+	+	+	+
19	7 m. w. R. anh. . . .	+	+	+ +	+ +
20	7 l. K. M. anh.	—	—	+	—
21	102 m. w. R. häm. . . .	+	+ +	+ +	+ +
22	102 m. K. R. häm. . . .	+	+ +	+ +	+ +
23	102 w. l. M. häm. . . .	+	+ +	+ +	+ +
24	102 w. m. M. häm. . . .	+	+ +	+ +	+ +
25	102 Sed. häm.	+	+ +	+	+ +
26	106 w. m. M anh. . . .	—	—	—	—
27	106 w. l. M. anh.	—	—	—	—
28	106 m. K. R. anh. . .	—	—	—	—
29	106 Sed. anhäm.	—	—	—	—
30	164 w. l. M. anh.	—	—	—	—
31	164 Sed. anh.	—	—	—	—
32	164 m. w. R. anhäm. . .	—	—	—	—
33	164 l. K. R.	—	—	—	—
34	168 l. K. M. anhäm. . . .	—	—	—	—
35	168 Sed. häm.	+	+ +	+	+ +
36	168 m. K. M. anhäm. . .	—	—	+	—
37	168 m. w. R. anhäm. . .	—	+ +	—	+ +
38	168 w. l. M. häm. . . .	+	+ +	+	+ +
39	168 w. l. R. anhäm. . . .	+	+ +	+ +	+ +
40	168 l. K. R anhäm. . . .	—	—	—	—
41	170 m. w. R. häm. . . .	—	—	—	+
42	170 m. K. M. anhäm. . .	—	—	+	+
43	170 häm. Sed.	—	—	—	+
44	170 m. K. R. häm. . . .	—	—	—	+
45	170 l. w. R. häm.	—	—	—	—
46	170 l. w. M. anhäm. . . .	—	—	+	—
47	173 m. w. R. häm. . . .	+	+ +	+ +	+ +
48	173 w. l. M. anh.	—	—	—	—
49	173 m. K. M. häm. . . .	+	+ +	+	+
50	173 w. m. M. häm. . . .	—	+ +	+ +	+ +
51	175 häm. Sed.	+	+ +	+ +	+ +
52	175 l. w. R. häm.. . . .	+	+ +	+ +	+ +
53	Marktmilch I	—	—	+	—
54	Marktmilch II	—	—	—	-

während auf Menschen- und Kaninchenblut eine starke, auf Ziegenblut eine sehr starke Hämolyse zutage trat.

Die 54 Milchstreptokokkenstämme zeigten nur etwa in der Hälfte (25) auf Menschenblut Hämolyse, und zwar nur in Spuren, niemals war die Hämolyse so stark, wie sie bei der übergroßen Mehrzahl der Streptokokken, die aus menschlichen Erkrankungen stammen, beobachtet wird. Auch bei den Milchstreptokokken und zwar bei diesen sogar weit deutlicher als bei den pyogenen Streptokokken, fanden sich je nach der Blutart Unterschiede im Grade der Hämolyse, wobei sich die schwächste Reaktion regelmäßig auf Menschenblut zeigte. Im übrigen ließ sich jedoch bei diesem Versuch nicht mehr dieselbe Gesetzmäßigkeit in der Zunahme der Hämolyse wie bei den früheren Versuchen feststellen. So war öfters die Lösung am stärksten im Kaninchenblut. Ich möchte vermuten, daß dafür bei der von Anfang an geringen Hämolyse das zunehmende Alter der Kulturen ausschlaggebend gewesen ist; immerhin liefert auch dieser Versuch den Beweis für die große Ungleichmäßigkeit der hämolytischen Reaktion auf verschiedene Blutarten. Es dürfte daher zweckmäßig sein, bei Untersuchungen auf Hämolyse neben der Konzentration des Blutagargemisches stets auch die verwendete Blutart anzugeben. Die Geburtshelfer, die ja die Frage der Hämolyse der Streptokokken besonders interessiert, dürften gut tun, ausschließlich Menschenblut bei ihren Untersuchungen zu verwenden, das zudem den Vorteil bietet, daß es bei jeder Geburt steril aus der Nabelvene erhalten werden kann. Meine Resultate stehen nicht im Einklang mit den Angaben Zangemeisters (33), der graduelle Unterschiede in der Hämolyse der Streptokokken nur ausnahmsweise sah.[1] Ein Stamm, der überhaupt hämolysiert, tut es nach ihm auch auf allen Blutarten (und zwar auf Menschen-, Schweine-, Kalbs-, Rinder-, Pferde-, Kaninchen-, Hühner- und Taubenblut). Er berichtet übrigens von ähnlichen Resultaten Natwigs (34) und Heynemanns (35). Bachrach und Grafe (36) fanden dagegen für eine Reihe anderer Bakterien, ebenso wie ich für die Streptokokken, eine verschieden starke Wirkung des Hämolysins auf verschiedene Blutarten. Ich befinde mich darin mit Kerner (37) in Übereinstimmung, der auf Menschen- und Froschblut die schwächste, auf Hundeblut die stärkste Hämolyse sah.

Die von mir angewandten Blutplatten enthielten, wie ich noch bemerken will, stets die gleichen Mengen Blut, nämlich 1 ccm defibriniertes Blut auf 10 ccm gelösten Agars.

[1] Das liegt wohl daran, daß Z. hauptsächlich Streptokokken menschlichen Ursprunges untersuchte.



In gleicher Weise geprüfte 18 Stämme von Mastitisstreptokokken erwiesen sich ebenfalls als anhämolytisch auf Menschenblut; nur in einem Falle trat starke Hämolyse auf.

Unter 48 Stämmen, die ich weiterhin aus Marktmilch züchten konnte, waren 24 anhämolytisch, 15 zeigten eine Andeutung von Hämolyse und 9 waren grün.

Untersuchungen über die Form und Art der Bakterien im Verlauf ihrer zunehmenden Säuerung bei 22 und 37° C ergaben einzig und allein eine stärkere Zunahme der Streptokokken bei 37°. Auch diesmal ließ sich ein etwaiges Überwiegen von hämolytischen Kokken und runden Formen bei Züchtung in Körpertemperatur nicht feststellen. Die Keimzahl eines Kubikzentimeters frischer Marktmilch (im Sommer) betrug in 5 Fällen 210 000, 948 600, 372 000, 25 650, 173 600. Die Bouillonverdünnungen erwiesen sich dementsprechend bei $1:10^4$ bzw. $1:10^6$ getrübt und bakterienhaltig. Es sind das verhältnismäßig niedrige Zahlen für Marktmilch. Schwankte doch nach Gernhardt (38) in der Dorpater Marktmilch die niedrigste Keimzahl zwischen 402 046 (Winter) und 2 120 968 Keimen (Sommer), die höchste zwischen 2 322 103 und 33 990 850 im Kubikzentimenter.

Die Tierpathogenität der Milch- bzw. Mastitisstreptokokken (s. oben S. 450 bzw. 452), wie sie von Beck (4) für die Milchstreptokokken, von Rullmann (14) und Trommsdorff für die Mastitisstreptokokken behauptet wurde, ist auch Gegenstand einer Reihe von anderen Untersuchungen gewesen. Brüning (39) fand unter 40 Milchstreptokokken nur einmal einen mäusevirulenten. Heinemann (40) konnte durch Kaninchenpassage dem Streptococcus lacticus Virulenz verleihen. Bergey (12) und Baehr (16) konnten keine Virulenz der Milchstreptokokken im Tierversuche finden. Auch für die Mastitisstreptokokken ergab sich nach Lameris (41) und van Harrevelt, Reed und Ward (42) eine Unschädlichkeit für Meerschweinchen und Kaninchen, obwohl die letzteren mit ihnen eine Mastitis bei einer anderen Kuh erzeugen konnten. Gröning (43) fand Mastitisstreptokokken nur in einem Drittel der Fälle für Mäuse pathogen. Rühm (44) berichtete über Fütterungsversuche an Kälbern mit streptokokkenhaltiger Milch, die negativ verliefen.

Um bei dem Widerstreit der Meinungen ein eigenes Urteil zu gewinnen, wurden von mir Marktmilchproben (frische Morgenmilch) in folgender Weise auf ihren Gehalt an pathogenen Streptokokken untersucht.

1. Es wurden 5 ccm frische Milch (f. M.) in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens injiziert.



Tabelle IX.

Intraperitoneale Injektion von 5 ccm Marktmilch bei Meerschweinchen.

Lfd. Nr.	Gewicht i. grm	Milchart	Keimzahl in 5 ccm	Injiziert am	Tot am	Im Peritonealeiter
1	350	F. M. I	2 050 000	10. IX.	lebt	—
2	350	Sed.-M. I	nicht gezählt	10. IX.	„	—
3	230	Ofen-M. I	59 210 000	10. IX.	„	—
4	240	Ofen-M. I	59 210 000	10. IX.	„	—
5	250	F. M. II	132 060 000	10. IX.	16. IX.	Gramnegative Stäbchen in Reinkultur.
6	280	Sed.-M. II	nicht gezählt	10. IX.	lebt	—
7	230	Ofen-M. II	608 220 000	10. IX.	16. IX.	Mischung von gramnegativen und grampositiven Stäbchen, daneben vereinzelte lanzettförmige Diplokokken.
8	220	Ofen-M. II	608 220 000	10. IX.	lebt	—
9	470	F. M. III	60 450 000	10. IX.	„	—
10	280	Sed.-M. III	nicht gezählt	10. IX.	„	—
11	240	Ofen-M. III	734 700 000	10. IX.	20. IX.	Fast ausschließlich gramnegative Stäbchen, ganz vereinzelte kurze Streptokokkenketten.
12	240	Ofen-M. III	734 700 000	10. IX.	15. IX. schwerkrank getötet	Kurze Ketten von lanzettförmigen Diplokokken in Reinkultur.
13	370	F. M. IV	10 100 000	10. IX.	lebt	—
14	240	Sed.-M. IV	nicht gezählt	10. IX.	„	—
15	240	Ofen-M. IV	477 400 000	10. IX.	„	—
16	220	Ofen-M. IV	477 400 000	10. IX	12. IX.	In der Hauptsache lanzettförmige Diplokokken, selten gramnegative Stäbchen.
17	280	F. M. V	2 100 000	10. IX.	21. IX.	Staphylokokken rein.
18	230	Sed.-M. V	nicht gezählt	10. IX.	lebt	—
19	240	Ofen-M. V	84 630 000	10. IX.	„	—
20	240	Ofen-M. V	84 630 000	10. IX.	„	—
21	540	F. M. VI	nicht gezählt	12. IX.	„	—
22	240	Sed.-M. VI	„	12. IX.	„	—
23	450	Ofen-M. VI	„	12. IX.	20. IX.	Kurze Ketten runder Streptokokken, fast rein.
24	390	Ofen-M. VI	„	12. IX.	lebt	—
25	520	F. M. VII	„	12. IX.	„	—
26	240	Sed.-M. VII	„	12. IX.	„	—
27	550	Ofen-M. VII	„	12. IX.	„	—

Tabelle IX. (Fortsetzung.)

Lfd. Nr.	Gewicht i. grm	Milchart	Keimzahl in 5 ccm	Injiziert am	Tot am	Im Peritonealeiter
28	500	Ofen-M. VII	nicht gezählt	12. IX.	18. IX. schwerkrank getötet	Gramnegative Stäbchen in Reinkultur.
29	590	F. M. VIII	„	12. IX.	18. IX.	
30	230	Sed.-M. VIII	„	12. IX.	lebt	—
31	450	Ofen-M. VIII	„	12. IX.	„	—
32	540	Ofen-M. VIII	„	12. IX.	„	—
33	240	F. M. IX	„	12. IX.	„	—
34	210	Sed.-M. IX	„	12. IX.	14. IX.	Gemisch von gramnegativen Stäbchen und grampositiven lanzettförmigen Diplokokken.
35	400	Ofen-M. IX	„	12. IX.	13. IX.	In der Hauptsache gramnegative Stäbchen, daneben einzelne kurze Streptokokkenketten.
36	570	Ofen-M. IX	„	12. IX.	13. IX.	
37	250	F. M. X	„	12. IX.	lebt	—
38	220	Sed.-M. X	„	12. IX.	„	—
39	600	Ofen-M. X	„	12. IX.	13. IX.	In der Hauptsache gramnegative Stäbchen, daneben wenig runde u. lanzettförmige Streptokokken in kurzen Ketten.
40	470	Ofen-M. X	„	12. IX.	13. IX.	

2. Das durch Zentrifugieren erhaltene Sediment von 10 ccm frischer Milch wurde mit 5 ccm steriler Kochsalzlösung aufgeschwemmt (Sedimentmilch), und wurde ebenfalls je einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert.

3. Nach drei Stunden, während deren die frische Milch im Ofen bei 37 ° C (Ofenmilch) gestanden hatte, um eventuelle pathogene Keime anzureichern, wurden je 5 ccm Milch zwei weiteren Meerschweinchen intraperitoneal injiziert.

Gleichzeitig wurde die Milch auf ihre Beschaffenheit in der üblichen Weise untersucht. In Tabelle IX sind die geimpften Tiere, Keimzahl der verimpften Milch und der mikroskopische Befund bei den gestorbenen Tieren wiedergegeben. Es erkrankten die intraperitoneal injizierten Tiere fast sämtlich mit hohem Fieber und allgemeiner Mattigkeit. 14 Tiere, also etwas mehr als der vierte Teil gingen nach 1 bis 11 Tagen zugrunde, die übrigen blieben über Wochen hinaus gesund. Die Sektion der gestorbenen sowie zweier schwerkrank getöteter Tiere hatte nun folgendes interessante Ergebnis: Es fanden sich niemals echte pyogene Streptokokken in langen Ketten. Einmal fanden sich lanzettförmige Streptokokken rein, ein weiteres Mal fast rein; in einem



Falle enthielt der Peritonealeiter fast ausschließlich kurze Ketten runder Streptokokken. Diesen 3 Fällen stehen 11 andere Fälle gegenüber und zwar 3 Fälle von reiner Koliperitonitis, 1 Fall von reiner Staphylokokkenperitonitis und 7 Fälle, in denen eine Mischinfektion bestand, in der Kolibazillen überwogen. Die Milchstreptokokken zeigten demnach zum mindesten keine größere Virulenz als das Bacterium coli. Wie aber weitere Versuche zeigten, führt auch schon keimfreie Milch zu einer, allerdings aseptischen Peritonitis: Die Injektion von 5 bzw. 10 ccm einer 10 Minuten gekochten Milch, die ich bei je 2 Meerschweinchen ausführte, erzeugte eine starke sterile Eiterabsonderung in die Bauchhöhle und mäßiges Fieber in den ersten Tagen. Es besteht also eine aggressive Wirkung des Milcheiweißes und Milchfettes wie sie für das Butterfett bei säurefesten Bakterien seit langem bekannt ist.

Außer der intraperitonealen Einverleibung studierte ich auch den Einfluß lebender Mastitisstreptokokken auf die Magendarmschleimhaut. Es wurden je vier anderen Meerschweinchen 10 ccm frische, stark eitrige Mastitismilch oder 10 ccm 24 stündiger Bouillonkultur echter stacketförmiger Mastitisstreptokokken mit einem Trachealkatheter in den Magen injiziert. Die Tiere blieben vollkommen gesund; die Temperatur war normal, die Freßlust war ungestört, desgleichen die Verdauung.

Wenn also schon die Versuche, selbst bei Einspritzung in die Gewebe nur eine höchstens ganz geringe pathogene Wirkung der gewöhnlichen Milchstreptokokken ergaben, so fielen auch die Fütterungsversuche mit Mastitisstreptokokken, auf die doch der Hauptwert gelegt werden muß, in allen 14 Fällen vollkommen negativ aus. So wurden von uns also die überraschenden Ergebnisse von Beck (4) im Tierversuch nicht bestätigt.

Auf die Tierversuche war schon von vornherein kein entscheidender Wert zu legen. Wir gehen deshalb auf Versuche an anderen Tieren, z. B. an Mäusen, die mehrfach und auch bei uns gewisse Erfolge ergeben haben, nicht ein.

Eine wirklich maßgebende Virulenzbestimmung wäre ja nur möglich durch unmittelbare Versuche am Menschen, die aber bisher nicht vorliegen. Einen Ersatz könnte man in einer Methode sehen, die von Bürgers (45) vor mehr als Jahresfrist veröffentlicht wurde. Sie beruht auf der bekannten Tatsache, daß virulente Bakterien von den Leukozyten schlecht oder gar nicht aufgenommen werden. Bürgers zählt diejenigen Leukozyten von Hundert, die keine Bakterien aufgenommen haben, und nennt diese Zahl Virulenzzahl. Nach ihm hat man Streptokokken mit Virulenzzahlen von 50 und mehr als virulent zu betrachten. In der folgenden Tabelle sind in dieser Weise eine große Anzahl meiner Milch-



stämme gegen Menschenblut ausgewertet. Leider kam für mich aus äußeren Gründen nur das Blut von erwachsenen Menschen in Betracht. Die Auswertung gegen Säuglingsblut wäre natürlich beweisender. Trotz dieser Einschränkung, meine ich, dürften meine diesbezüglichen Untersuchungen von einigem Interesse sein.

Tabelle X.

Virulenzprüfung von Milchstreptokokken im Menschenblut.

Nr.	Stamm	Blut	Serum	Virulenzzahl	Nr.	Stamm	Blut	Serum	Virulenzzahl
1	32 Lack.	B.	P.	4	37	52 c	B.	P.	4
2	35 Agar	„	„	4	38	46 e	„	„	12
3	23 Lack.	„	„	0	39	52 d	„	„	4
4	27 Agar	„	„	0	40	53 b	„	„	2
5	30 Lack.	„	„	5	41	52 b	„	„	2
6	34 Lack.	„	„	1	42	52 a	„	„	8
7	50 c	„	„	22	43	63 b	B.	B.	12
8	53 a	„	„	26	44	24 a	„	„	5
9	46 c	„	„	25	45	63 c	„	„	36
10	48 a	„	„	32	46	26 b	„	„	2
11	46 b	„	„	38	47	63 d	„	„	10
12	46 a	„	„	28	48	64 d	„	„	4
13	48 c	„	„	12	49	64 e	„	„	4
14	64 l	„	„	2	50	63 l	„	„	10
15	64 m	„	„	2	51	64 c	„	„	42
16	50 d	„	„	1	52	63 h	„	„	14
17	49 a	„	„	4	53	64 e	„	„	0
18	64 i	„	„	4	54	64 i	„	„	4
19	47 c	„	„	12	55	63 k	„	„	0
20	47 a	„	„	8	56	64 b	„	„	4
21	46 k	„	„	13	57	25	„	„	2
22	44 c	„	„	3	58	64 n alt	„	„	4
23	49 b	„	„	3	59	64 f	„	„	0
24	52 f	„	„	2	60	62 b	„	„	0
25	45 b	„	„	22	61	64 h	„	„	0
26	44 d	„	„	0	62	42	„	„	0
27	50 e	„	„	0	63	64 g	„	„	0
28	64 k	„	„	0	64	62 c	„	„	0
29	50 b	„	„	0	65	63 a	„	„	26
30	53 d	„	„	4	66	63 g	„	„	0
31	29 a	„	„	2	67	43	„	„	8
32	46 f	„	„	0	68	62 a	„	„	2
33	44 c	„	„	0	69	64 n neu	„	„	4
34	44 e	„	„	0	70	64 h neu	„	„	2
35	44 b	„	„	0	71	24 c	„	„	0
36	51 a	„	„	8	72	63 n	„	„	0

In 72 Fällen schwankt die Virulenzzahl zwischen 0 und 42. Die Zahl 42 aber ist für Milchstreptokokken schon sehr hoch, zeigen doch unter 72 Fällen nur 4 Fälle mehr als 30. In 20 Fällen war die Virulenz gleich 0.

In der nächsten Tabelle lasse ich einige Versuche über Mastitisstreptokokken, die ich in gleicher Weise gegen Menschenblut auswertete, folgen.

Tabelle XI.

Nummer	Stamm	Blut	Serum	Virulenzzahl
1	5 a	B.	P.	2
2	2 b	,,	,,	0
3	8 b	,,	,,	2
4	7 a	,,	,,	0
5	6 b	,,	,,	8
6	4 c	,,	,,	6
7	10 c	,,	,,	4

Stellt man diesen Zahlen einige von Bürgers (a. a. O.) für menschenpathogene Streptokokken gefundenen Werte gegenüber (s. Tabelle XII), so wird der erhebliche Unterschied klar.

Tabelle XII.[1]

Stamm	Virulenzzahl
Liebe	80
Rüdiger	70
Tollkühn	70
Tomascheites	84
Schering	94
Iwohn	64
Priess	84
Kroll	64
Str. virid. 11	84
Str. häm. (Phlegmone)	72

Einen ähnlichen Unterschied hoffte ich auch in Parallelversuchen von Mastitisstreptokokken gegen Menschen- und Rinderblut zu erhalten. Ich bekam dabei folgende Werte:

[1] Ausgezogen aus Bürgers: Über Virulenzbestimmung.



Tabelle XIII.

Nummer	Stamm	Virulenzzahl	
		Mensch	Rind
1	2	2	14
2	3	16	42
3	7 b	0	28
4	13 a	2	22
5	4 c	0	0
6	8 a	0	4
7	6 b	20	28
8	6 c	4	12
9	8 b	0	22
10	9 a	15	6
Summa	10	59	178

Fast stets erschien danach, wie man erwarten mußte, die Virulenzzahl der Mastitisstreptokokken gegen Rinderleukozyten geprüft höher als die gegen Menschenleukozyten.

Auf meine Veranlassung prüfte Hr. Tierarzt Gohr noch weitere Mastitisstreptokokken in gleicher Weise. Mit seiner Erlaubnis lasse ich die Resultate hier folgen.

Tabelle XIV.

Nummer	Stamm	Virulenzzahl	
		Mensch	Rind
1	18	10	40
2	22	2	2
3	25	0	0
4	26	0	0
5	28	14	22
6	30	16	20
7	34	10	24
8	35	10	12
9	36	4	4
10	38	8	11
11	39	10	13
12	40	4	10
13	41	8	13
14	42	10	10
15	43	0	8
16	48	4	20
17	49	9	18
18	50	0	2
Summa	18	119	229

Das Ergebnis war also auch hier das gleiche.



Bei Betrachtung der beiden letzten Tabellen fällt allerdings die verhältnismäßig geringe Virulenzzahl der Mastitiskokken gegenüber dem Rinderblut auf. Diese Tatsache erklärt sich vielleicht dadurch, daß es sich bei der Mastitis der Rinder um eine schleichende örtliche Infektion handelt; immerhin tritt in fast allen Fällen (eine Ausnahme Nr. 10, Tabelle XIII) eine höhere Virulenz gegen das Rind deutlich zutage. Der Unterschied wird besonders klar durch Gegenüberstellung der Zahlensummen. Es haben im ganzen in beiden Versuchsreihen (28 Stämme) nicht gefressen 59 + 119 = 178 Menschenleukozyten und 178 + 229 = 407 Rinderleukozyten. Es verhält sich also die Virulenzzahl gegen Menschen- und Rinderleukozyten bei unseren Mastitisstreptokokken wie 178 : 407 d. h. wie 1 : 2, 28.

Alle diese Versuche über Hämolyse, Virulenz im Tierversuch oder im Reagenzglasversuch scheinen also für die Unschädlichkeit der Milch- und Mastitisstreptokokken zu sprechen.

Außer durch die Untersuchung von Kuhmilch auf ihren Gehalt an virulenten Streptokokken, versuchte ich, mir durch Untersuchungen von Säuglingsstuhlproben darüber Klarheit zu verschaffen, ob pathogene Streptokoken in Beziehung zur Sommerdiarrhoe der Säuglinge stehen.

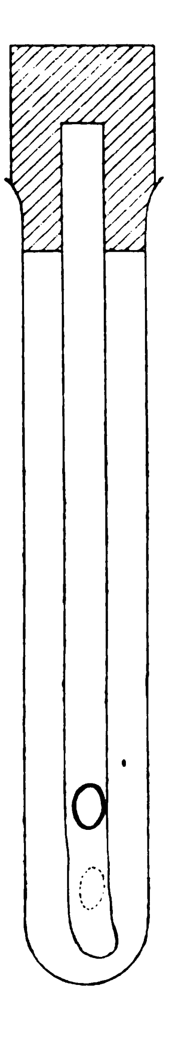
Sogenannte Streptokokkenenteritiden sind von Escherich (1) und seinen Schülern Hirsch (46), Libmann (47), Spiegelberg (48), Jehle (30), Pincherle (31), außerdem von Booker (49) und Blum (50) beobachtet und genau beschrieben worden. Eine Anzahl derselben stammte übrigens von Brustkindern, bei denen also eine Infektion durch Kuhmilch ausgeschlossen war. In dem von Pincherle (31) beschriebenen Fall wurde allerdings der Infektionserreger in der Milch der Amme gefunden, die ausnahmsweise statt der bekanntlich sonst in der Frauenmilch, wie Knochenstierna (51), Sczegô (52), Palleske (53) und andere angeben, üblichen Staphylokokken ausnahmsweise einen Streptococcus beherbergte. Jedenfalls handelte es sich in diesem Falle nicht um Kuhmilchinfektion.

Suchen wir uns ein Urteil über die Bedeutung von Streptokokkenfunden in den Fäzes zu verschaffen, so werden wir in erster Linie zu denken haben an die Angaben der französischen Autoren (Tissier (54), Thiercelin), die den vor ihnen sogenannten Enterococcus, nach ihrer Beschreibung nichts weiter als eine Abart des Streptococcus, schon wenige Stunden nach der Geburt als normalen Darmbewohner, vorwiegend im Dünndarm nachweisen konnten.

Damit stimmt zusammen, daß schon Escherich (55) selbst in seiner grundlegenden Arbeit über die Darmbakterien des Säuglings als häufigen



Darmbewohner den Micrococcus ovalis, d. h. wahrscheinlich nichts anderes als diesen „Enterococcus" gefunden hatte. Kruse (56) und Pasquale erwähnen ferner in ihrer Arbeit über Amöbendysenterie (1893) den häufigen Befund von Streptokokken, und ähnliche Befunde wurden später im Kruseschen Laboratorium bei allen möglichen Krankheiten, z. B. bei Typhus und Bazillenruhr, aber auch oft genug bei ganz gesunden Menschen erhoben. Ausdrücklich stellt Kruse (5) diese Befunde denen Escherichs, Thiercelins usw. an die Seite und identifiziert den „Enterococcus" im wesentlichen mit dem Streptococcus lacticus.



Was meine eigenen Untersuchungen angeht, so wurde es durch die Liebenswürdigkeit des Hrn. Professor Falkenheim mir ermöglicht, von 31 darmgesunden und 30 darmkranken (61) Flaschenkindern Stuhlproben zu entnehmen, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen besten Dank sage.

Das Untersuchungsmaterial entnahm ich mit einem Apparat, den ich mir selbst zusammenstellte, da mir ähnliche Apparate, wie der von Cohnheim (57), Jehle (58), Sato (59) und andere damals unbekannt waren. Er besteht aus einem weiblichen Katheter, den ich auf Fingerlänge (etwa 7 bis 9 ^{cm}) kürzen und in einen Korkpfropfen einpassen ließ, der wiederum in ein entsprechend langes Reagensgläschen paßte (siehe Abbildung). Dieser Apparat ist leicht herstellbar, billig, leicht zu reinigen und zu sterilisieren und läßt sich unauffällig und sauber in die Praxis mitnehmen. Die Anwendung ist sehr einfach: Nachdem man das Röhrchen geöffnet, ohne an den Rand des Glases zu stoßen, führt man den Katheter mit der rechten Hand in den äußerlich mit Sublimatlösung gereinigten After ein, während die linke Hand die beiden Beinchen umfaßt und emporhebt und die Nates spreizt. Meistens regt die, übrigens nicht schmerzhafte, Einführung des Katheters die Bauchpresse an und der Kot steigt von selbst in den Katheter; bei festerem Darminhalt genügen mehrere vorsichtige Drehungen, um ausreichendes Untersuchungsmaterial in die Öffnungen des Katheters einzuklemmen.

Das so gewonnene Material wurde bald nach der Entnahme nach der Gramschen Methode und mit verdünnter Fuchsinlösung (1:20) gefärbt (Escherich) und mikroskopisch untersucht. Dabei heben sich die grampositiven Streptokokken deutlich von den gramnegativen Kolibazillen ab. Die Sporenbildner, Vibrionen, Hefen usw. treten gegen diese beiden Bakterien meistens stark zurück; der grampositive Bacillus bifidus (Tissier), der dem Darminhalt des gesunden Brustkindes das charakteristische Gepräge verleiht, ist im allgemeinen bei Flaschenkindern selten. Bei vielen Enteritisfällen

fanden sich die Streptokokken im mikroskopischen Präparat deutlich vermehrt. Diese Vermehrung ist vielleicht nur eine scheinbare[1] und wird dadurch bewirkt, daß der normale Bewohner des Dünndarms durch die beschleunigte Peristaltik schon vor seiner Vernichtung und Ersatz durch andere Bakterien in den Fäzes erscheint.

Nach Anfertigung des mikroskopischen Präparates wurde eine geringe Menge in der oben beschriebenen Weise mit dem Platinpinsel auf Agar-, Blut- und Lackmusmilchzuckeragarplatten verteilt. Von den gewachsenen Kolonien wurden dann weiter Kulturen in Lackmusmilch, Bouillon und Gelatine angelegt.

Wie die folgende Tabelle XV zeigt, gelang mir in 60 von 61 Fällen aus den Fäzes normaler oder kranker Säuglinge[1] Streptokokken zu züchten, nur in einem Falle fand sich eine Reinkultur von Kolibazillen (Nr. 42).

Abgesehen davon, daß die Darmstreptokokken nur in $^2/_3$ der Fälle Säure bildeten, fiel in jeder Beziehung ihre große Ähnlichkeit mit dem Streptococcus lacticus auf. Insbesondere betrifft das auch die Hämolyse, die ich im Gegensatz zu Jehle, dessen Technik offenbar nicht einwandfrei war, stets (bei Verwendung von Menschenblut) vermißte oder nur spurweise feststellen konnte. Es war nun noch von Interesse im Reagensglasversuch die Virulenz dieser menschlichen Streptokokken gegen Menschenblut zu prüfen, die man, falls sich eine solche nicht nachweisen ließ, mit einiger Sicherheit den Streptokokken jede Beteiligung an der Enteritis absprechen konnte (s. Tabelle XVI auf S. 490).

Unter 20 geprüften Stämmen zeigte nur einer eine ziemlich hohe, ein anderer eine hohe Virulenzzahl. Der erstere Stamm rührte von einem sehr elenden darmkranken Flaschenkinde her, er war jedoch anhämolytisch. Der zweite Stamm war aus dem Stuhl eines darmgesunden Flaschenkindes isoliert worden und war ebenfalls anhämolytisch. In diesen Fällen hatte also der virulente Stamm dem (an ihn gewöhnten?) Kind nichts anhaben können. Ob bei Eintreten einer Darmstörung aus anderer Ursache nicht dieser Streptococcus doch seine Pathogenität gegenüber seinem Träger gezeigt hätte, läßt sich natürlich nicht ohne weiteres sagen. Bei dem anderen weniger virulenten Stamm ist ein Zusammenhang mit der Enteritis, wenigstens eine Virulenz-

[1] Bei Erwachsenen scheinen die Streptokokken nicht ganz so regelmäßig in den Fäzes vorzukommen. Das liegt wohl darin, daß der Aufenthalt des Darminhalts im Dickdarm, bei dem die Streptokokken allmählich verschwinden bzw. durch andere Bakterien ersetzt werden, hier länger dauert als beim Säugling. Eben derselbe Grund verursacht wahrscheinlich das von uns häufig beobachtete Fehlen von Streptokokken im Kot von Kühen und anderen Pflanzenfressern.



Tabel…

Streptokokken au…

Lfd. Nr.	darm-krank?	Agar	Blutagar	Lackmusagar
1	ja	feinste graue Pünktchen	anhämolytische Tröpfchen	feinste dunkelgra… stark säuernde Tr… chen
2	nein	sehr kleine farblose Pünktchen	keine Hämolyse; nur mit Mühe sichtbare Tröpfchen	kleinste dunkelgra… nicht säuernde Tr… chen
3	ja	feinste graue Pünktchen	sehr feine, anhämolytische grauweiße Tröpfchen	feinste graue Tröp… chen, starke Sä… bildung
4	nein	feinste weißlichgraue durchscheinende Pünktchen	dunkelgraue flache anhämolytische Tröpfchen	zarte, graue Tröpfc… wenig Säure bild…
5	ja	feinste graue Pünktchen	allerfeinste anhämolytische grauweiße Pünktchen	feinste graue Pün… chen, Säurebildu… sehr gering
6	ja	desgl.	sehr kleine graue anhämolytische Pünktchen	kleinste kaum si… bare Pünktchen, s… Säurebildung
7	ja	kleinste graue Pünktchen	feinste grauweiße anhämolytische Pünktchen	sehr zarte, grau… Pünktchen
8	ja	allerfeinste graue Pünktchen	kaum sichtbare anhämolytische graue Tröpfchen	starke Säurebildu… feinste graue Tröp…
9	ja	feinste graue Pünktchen	kleinste graue anhämolytische Tröpfchen	feinste grauwei… wenig säuernde Pünktchen
10	ja	feinste, grau durchscheinende Pünktchen	feinste, fast farblose anhämolytische Tröpfchen	feinste graue, w… säuernde Pünkt…
11	ja	feinste graue Pünktchen	keine Hämolyse	kleinste weißgra… keine Säuerung
12	ja	desgl.	feinste dunkelgraue anhämolytische Tröpfchen	zarte graue Pün… chen ohne deutl… Säuerung
13	ja	desgl.	kaum sichtbare anhämolytische Tröpfchen	zarte grau… Pünktchen

V.

äuglingsstuhl.

Lackmusmilch	Gelatine	Bouillon makroskopisch	Bouillon mikroskopisch
rot geronnen	ø	klar, krümeliger Bodensatz	größere u. kleine runde Kokken in mittellangen Ketten, daneben auch lanzettförmige Streptokokken; Übergänge in einer Kette
was gerötet, nicht geronnen	zarte Bestäubung	diffus getrübt	große lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten, öfters stäbchenähnliche Elemente
, am Boden entfärbt, geronnen	allerfeinste Tröpfchen	diffus getrübt	kurze Ketten großer lanzettförmiger Streptokokken, öfters Stäbchenformen
rot, zur Hälfte geronnen	sehr zarte Bestäubung	diffus getrübt	lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
gerötet, flüssig	sehr zarter, grau durchscheinender etwas konfluierender Rasen feinster Tröpfchen	wenig diffus getrübt, starker grauer schleimiger Bodensatz	lanzettförmige Diplokokken
flüssig, blau	ø	wenig diffus getrübt, starker fadenziehender Bodensatz	kurze Ketten großer lanzettförmiger Diplokokken
abgestorben	abgestorben	abgestorben	abgestorben
rot, geronnen	ø	wenig diffus getrübt, geringer Bodensatz	lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
rot, zum Teil geronnen	ø	klar, mäßig reichlicher, fadenziehender Bodensatz	lanzettförmige Diplokokken
$^2/_3$ gerötet, $^1/_3$ entfärbt, nicht geronnen	sehr zarte Bestäubung mit hellgrauen durchscheinenden Pünktchen	diffus getrübt	lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
venig gerötet, flüssig	grau durchscheinende, sehr zarte konfluierende Tröpfchen	wenig diffus getrübt	meistens lanzettförm. Diplokokken in kurzen Ketten u. Rosetten
gerötet, flüssig	sehr spärliches Wachstum, allerfeinste durchscheinende Tröpfchen	diffus getrübt	große lanzettförmige Diplokokken in mittellangen Ketten
rot, halb geronnen	sehr zarter, glasig durchscheinender, fast farbloser Tau	diffus getrübt	lanzettförmige Diplokokken in mittellangen Ketten



Tabelle X

Lfd. Nr.	darmkrank?	Agar	Blutagar	Lackmusagar
14	ja	zarte graue Pünktchen	feinste, farblose Tröpfchen, zum Teil mit sehr geringer Hämolyse	kleinste durch-scheinende ro[illegible] Tröpfchen
15	nein	kleinste graue Pünktchen	zarte graue anhämolytische Tröpfchen	zarte dunkelgr[illegible] wenig säuern[illegible] Pünktchen
16	nein	kleinste graue Pünktchen	kleinste dunkelgraue anhämolytische Tröpfchen	0
17	nein	sehr zarte graue Tröpfchen	sehr zarte graue Tröpfchen, geringe Hämolyse	sehr zarte gr[illegible] Pünktchen, k[illegible] Säuerung
18	ja	feinste durchscheinend graue Tröpfchen	zarte graue anhämolytische Tröpfchen	sehr zarte gr[illegible] Pünktchen, g[illegible] Säuerung
19	ja	feinste graue Pünktchen	feinste graue anhämolytische Tröpfchen	sehr zarte gr[illegible] Pünktchen, k[illegible] deutliche Säu[illegible]
20	ja	allerzarteste nur mit der Lupe sichtbare Pünktchen	sehr zarter, kaum sichtbarer Tau, ohne Hämolyse	nicht geprü[illegible]
21	ja	zarteste graue Pünktchen	sehr kleine graue anhämolytische Tröpfchen	„ „
22 (vgl. 11)	ja	kleinste graue Pünktchen	zarte graue anhämolytische Tröpfchen	„ „
23	nein	kleine flache, durchscheinende wenig graue Pünktchen	zarter anhämolytischer Tau	„ „
24	nein	zarte graue Pünktchen	zarte, kaum sichtbare anhämolytische Tröpfchen	„ „
25	ja	kleinste graue Pünktchen	kleinste graue anhämolytische Tröpfchen	zarte graue r[illegible] Tröpfchen
26	ja	zarte durchscheinend graue Pünktchen	zarter, eben sichtbarer Tau, ohne Hämolyse	zarter Tau, k[illegible] Säurebildung

(Fortsetzung.)

Lackmusmilch	Gelatine	Bouillon	
		makroskopisch	mikroskopisch
rot, zum Teil geronnen	zarte, grau durchscheinende, öfters konfluierende Tröpfchen	diffus getrübt	Mischung von sehr zarten, runden Streptokokken und großen, plumpen, lanzettförm. Diplokokken; beide in kurzen Ketten
rot, ein Drittel geronnen	sehr zarter, grau durchscheinender Tau	diffus getrübt	große lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
0	0	diffus getrübt	lanzettförmige Diplokokken
ast entfärbt, rötlich, flüssig	0	diffus getrübt, fadenziehender Bodensatz	zarte, lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
entfärbt, geronnen	verhältnismäßig üppiger, zarter, grau durchscheinender feinkörniger Rasen	fast klar, geringer grauer fadenziehender Bodensatz	a) von Agar: lange, gewundene Ketten sehr zarter, lanzettförmiger Diplokokken b) von Blutagar: große, lanzettförmige Diplokokken, einzeln u. in kurzen Ketten
ot, am Boden etwas geronnen	grau durchscheinende zarteste, konfluierende Tröpfchen	fast klar, geringer fadenziehender Bodensatz	kurze Ketten zarter, langförmiger Diplokokken
gerötet, flüssig	zarteste durchscheinende glänzende Tröpfchen	klar, geringer teils fadenziehender, teils flockiger grauer Bodensatz	lange Ketten großer, lanzettförmiger Diplokokken, manchmal mit Zwischenschaltung stäbchenähnl. Elemente
hellrot, am Boden etwas geronnen	zarte grau durchscheinende Tröpfchen	diffuse Trübung	kurze Ketten lanzettförmiger Diplokokken
hellrot, $^1/_3$ entfärbt ınd dann geronnen	0	diffuse Trübung	große, lanzettförmige Diplokokken, einzeln u. in kurzen Ketten
fast entfärbt, geronnen	zarte, grau durchscheinende konfluierende Tröpfchen	diffuse Trübung, fadenziehender grauer Bodensatz	große, lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
0	0	geringe diffuse Trübung	lanzettförmige Diplokokken
nicht gewachsen		nicht gewachsen	
gerötet, flüssig	0	diffus getrübt, fadenziehender Bodensatz	lanzettförmige Diplokokken



Tabelle X

Lfd. Nr.	darm-krank?	Agar	Blutagar	Lackmusagar
27	nein	sehr zarte graue, durchscheinende Tröpfchen	feinste farblose Tröpfchen, ohne Hämolyse	zarte wenig säu Tröpfche
28	nein	feinste graue Pünktchen	kleine flache graue Tröpfchen, ohne Hämolyse	kleine flache, Tröpfchen, im Z trum etwas du keine stärkere S bildung
29	nein	feinste graue Pünktchen	feinste graue Pünktchen, keine Hämolyse	zarte graue Pün ohne Säurebildu
30	nein	zarteste graue Tröpfchen	feinste anhämolytische graue Tröpfchen	feinste grau Pünktche
31	nein	kleine flache graue Pünktchen	zarter Tau, ohne Hämolyse	feinste graue Pü chen, ohne Sä bildung
32	nein	zarte graue Pünktchen	zarte anhämolytische Tröpfchen	zarte graur Tröpfchen
33	nein	sehr zarte grau durchscheinende Tröpfchen	zarter Tau, keine Hämolyse	kleinste zart nicht säuernde g Pünktche
34	ja	feinste graue Pünktchen	zarte anhämolytische graue Tröpfchen	zarte graur Tröpfchen
35	nein	feinste graue Pünktchen	zarte anhämolytische Tröpfchen	zarte graue Tröp ohne Säurebildu
36	nein	feinste durchscheinende Pünktchen	feinster farbloser Hauch, keine Hämolyse	zarte graur Tröpfchen
37	ja	winzige graue Pünktchen	kaum sichtbarer Tau, anhämolytisch	feinste graue P chen, schwache S bildung



ortsetzung.)

Lackmusmilch	Gelatine	Bouillon	
		makroskopisch	mikroskopisch
st entfärbt, am en etwas geronnen	zarte graue, zum Teil zackige, durchscheinende Kolonien	diffus getrübt, mäßig reichlicher fadenziehender Bodensatz	zarte Diplokokken in kurzen Ketten, Übergänge von runden Formen in Lanzettform .
lrot, 1/3 geronnen	durchscheinende flache Tröpfchen bis zu Stecknadelkopfgröße, im Zentrum ein grauweißer etwas erhabener Punkt	mäßig diffus getrübt, geringer, beim Schütteln wolkig zerfließender Bodensatz	sehr große, plumpe lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten, oft bazillenartige Formen
ellrot, geronnen	zarte zum Teil etwas unregelmäßig begrenzte grau durchscheinende Tröpfchen	geringe diffuse Trübung, geringer wolkiger Bodensatz	zarte lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten. öfters stäbchenähnliche Bildungen
entfärbt, zu 3/4 geronnen	zarte grau durchscheinende Tröpfchen, zu feingekörnten Rasen konfluierend	diffus mäßig getrübt, geringer wolkiger Bodensatz	zarte lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten, hin und wieder zarte stäbchenähnliche Formen
lrot, leicht bläulich, um Teil geronnen	sehr zarte durchscheinende, leichtgraue glänzende Tröpfchen	diffus getrübt	sehr zarte lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten, hin und wieder stäbchenähnliche Bildungen
ntfärbt, geronnen	sehr zarter, eben sichtbarer Tau	diffuse mäßige Trübung, krümeliger Bodensatz	lanzettförmige Diplokokken, einzeln und in kurzen Ketten, öfters Stäbchenformen
ntfärbt, geronnen	sehr zarter, durchscheinender, grauer Tau	diffus getrübt	kurze Ketten lanzettförmiger Diplokokken
nteres Drittel entrbt, sonst blau, **flüssig**	sehr zarte, grau durchscheinende Tröpfchen	mäßige diffuse Trübung, krümeliger Bodensatz	kurze Ketten von ovalen Kokken
ntfärbt, geronnen	kleine, grau durchscheinende Tröpfchen	geringe diffuse Trübung, geringer feinkrümeliger Bodensatz	lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten, öfters Stäbchenformen
ntfärbt, geronnen	zarter, wenig feuchter, fein granulierter, durchscheinender, oben grauer Rasen	diffuse Trübung, geringer feinkrümeliger Bodensatz	einzelne ovale Kokken, lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
ellrot, 1/4 geronnen	sehr zarte, eben sichtbare Tröpfchen	diffus getrübt, geringer Bodensatz	lanzettförmige u. runde Diplokokken in kurzen Ketten; Übergänge



Tabelle X

Lfd. Nr.	darm-krank?	Agar	Blutagar	Lackmusagar
38	nein	feinste durchscheinende Pünktchen	feinste farblose anhämolytische Tröpfchen	zarte grau- Tropfen, kei- Säurebildun-
39	nein	feinste grau durchscheinende, etwas unregelmäßige Tröpfchen	feinste graue Tröpfchen, ohne Hämolyse	zarte grau- Tröpfchen
40	nein	feinste graue durchscheinende Pünktchen	feinste graue anhämolytische Tröpfchen	feinste dunkelg- Pünktchen, … nachweisbare S- bildung
41	nein	zarte graue durchscheinende Pünktchen	zarte farblose anhämolytische Tröpfchen	zarte grau- Tröpfchen
42	nein	keine Streptokokken gefunden,		
43	nein	sehr zarte graue Pünktchen	feinste graue Pünktchen, ohne Hämolyse	zarte grau- Tröpfchen, … Säurebildung
44	nein	zarte graue Pünktchen	zarter farbloser anhämolytischer Hauch	zarte graue, w- Säure bilden- Tröpfchen
45	ja	zarte graue durchscheinende Pünktchen	zarter Tau, keine Hämolyse	feinste grau- Pünktchen
46	ja	desgl.	zarte farblose anhämolytische Tröpfchen	zarte graue Pünktchen, … Säurebildung
47	nein	zarte graue Pünktchen	farbloser anhämolytischer Hauch	feinste grau- Tröpfchen, … Säurebildung
48	nein	kleine grau durchscheinende Tröpfchen	zarter grauer anhämolytischer Rasen	feine graue, … Tröpfchen, ke- Säurebildung
49	nein	feinste graue Pünktchen	feinste dunkelgraue anhämolytische Tröpfchen	zarte graue Pünk- ohne starke Sä- bildung
50	nein	desgl.	desgl.	desgl.

'ortsetzung.)

Lackmusmilch	Gelatine	Bouillon makroskopisch	Bouillon mikroskopisch
ine Spur gerötet, n Boden entfärbt, flüssig	zarte, durchscheinend graue Tröptchen mit etwas unregelmäßigem Rand	geringe wolkige Trübung, wenig Bodensatz	große lanzettförmige Diplokokken in kurzen und langen Ketten
veißlich rot, vollommen geronnen	sehr zarte grau durchscheinende Tröptchen	diffus getrübt, mäßige Menge wolkigen Bodensatzes	große lanzettförmige Diplokokken i. längeren Ketten
rot, geronnen	0	diffus getrübt, kein Bodensatz	zarte lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
entfärbt, geronnen	zarte, fast farblose glanzende Tröptchen	mäßig diffuse Trübung, kein nennenswerter Bodensatz	kurze Ketten großer lanzettförmiger Diplokokken
	Reinkultur von Bacterium coli		
rötlichweiß, flüssig	feinste, kaum graue, durchscheinende Tröptchen	diffus getrübt	kurze Ketten lanzettförmiger zarter Diplokokken
fast entfärbt, flüssig	ungleich große, mikroskopisch identische, durchscheinende, etwas graue Tröptchen	„ „	lanzettförmige Diplokokken selten in Ketten, öfters stäbchenähnliche Formen
etwas gerötet, flüssig	sehr spärliches Wachstum, eben sichtbare farblose Tröpfchen	„ „	kurze Ketten, meistens lanzettförmiger Diplokokken
am Boden entfärbt, darüber bläulichrot, flüssig	zarte, durchscheinende Tröpfchen, im Zentrum ein feines, graues Pünktchen	„ „	zarte lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten, öfters stäbchenähnliche Formen
am Boden entfärbt, darüber hellrot, vollkommen geronnen	zarte, durchscheinende, etwas graue Tröpfchen	„ „	kurze Ketten lanzettförmiger Diplokokken
entfärbt, flüssig	feinkörniger, durchscheinender, wenig grauer Rasen	„ „	zarte lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten und Knaueln
am Boden entfärbt, darüber hochrot, flüssig	zarte, durchscheinende, eben graue Tröpfchen	„ „	lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten und Knäueln
entfärbt, flüssig	0	„ „	lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten



Tabelle XV

Lfd. Nr.	darm-krank?	Agar	Blutagar	Lackmusagar
51	ja	feinste graue Pünktchen	feinste dunkelgraue anhämolytische Tröpfchen	zarte graue Pünk-chen, ohne star- Säurebildung
52	ja	des l.	zarte graugrüne anhämolytische Tröpfchen	feinste graurosa Tröpfchen
53	ja	zarte, graue flache Pünktchen	zarte graue anhämolytische Pünktchen	feine graurosa Tröpfchen
54	ja	feinste graue Tröpfchen	zarte graue Tröpfchen, ohne Hämolyse	zarte graue nicht Säure bildende Tröpfchen
55	ja	desgl.	desgl.	zarte graurosa Tröpfchen
56	nein	kleinste grau durchscheinende Tröpfchen	zarte dunkelgraue Pünktchen, ohne Hämolyse	zarte, fast farblo- Tröpfchen, kein Säurebildung
57	nein	desgl.	zarte, fast farblose anhämolytische Pünktchen	zarte graurosa Tröpfchen
58	nein	desgl.	zarte graue Pünktchen, ohne Hämolyse	kleinste durchschei-nende nicht säuern- Tröpfchen
59	nein	desgl.	desgl.	zarte graue Tröpf-chen, ohne Säure-bildung
60	ja	desgl.	zarte, fast farblose Pünktchen, zeigen zum Teil eben erkennbare Spur von Hämolyse	desgl.
61	ja	sehr zarte, durchscheinende farblose Pünktchen	zarte graue anhämolytische Pünktchen	zarte, graurosa Tröpfchen

Fortsetzung.)

Lackmusmilch	Gelatine	Bouillon	
		makroskopisch	mikroskopisch
m Boden entfärbt, darüber gerötet, **flüssig**	ø	diffus getrübt	lanzettförmige zarte Diplokokken in kurzen Ketten
gerötet, nicht geronnen	sehr spärliches Wachstum in feinster eben sichtbarer Bestäubung	„ „	lanzettförmige Diplokokken
hellrot, klumpig geronnen	sehr zarte farblose Tröpfchen	diffus getrübt, mäßiger Bodensatz	mittellange Ketten von lanzettförmigen manchmal auch annähernd runden Diplokokken
oben rötlich, n übrigen entfärbt	grau durchscheinende zarte Tröpfchen	diffus getrübt	kurze Ketten lanzettförmiger Diplokokken, häufig Stäbchen-, kurze Spindel- und Traubenformen
nicht gewachsen	nicht gewachsen	kaum getrübt, geringer Bodensatz	lanzettförmige Diplokokken
Spur gerötet, **flüssig**	zarte grau durchscheinende Tröpfchen	mäßig diffuse Trübung, geringer Bodensatz	kurze Ketten von zarten ovalen und runden Diplokokken, einzelne Diplokokken zeigen deutliche Lanzettform
ellrot, zur Hälfte geronnen	nicht gewachsen	wenig diffus getrübt, reichlicher, fadenziehender Bodensatz	zarte lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
hellrot, $^1/_3$ geronnen	„ „	nicht gewachsen	nicht gewachsen
fast entfärbt, **flüssig**	„ „	geringe diffuse Trübung, spärlicher Bodensatz	zarte lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten öfters stäbchenähnliche Elemente
a) hämolytisch: st entfärbt, **flüssig**) anhämolytisch: etwas gerötet, **flüssig**	a) hämolytisch: zarte grau durchscheinende Tropfen b) sehr zarter Tau fast farbloser, glänzender Tröpfchen	a) hämolytisch: fast klar, dicker fadenziehender Bodensatz b) anhämolytisch: desgl.	a) und b) sehr zarte, lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten
gerötet, $^1/_3$ geronnen	spärliche, sehr zarte grau durchscheinende Tröpfchen	diffus getrübt	große plumpe, lanzettförmige Diplokokken in kurzen Ketten



steigerung durch dieselbe möglich. Die Frage aber, ob diese beiden Streptokokken aus der Milch in den Darm gekommen sind, ist durch nichts in positivem oder negativem Sinne zu beantworten.

Tabelle XVI.
Virulenz der Darmstreptokokken.

Nummer	Stamm	Blut	Serum	Virulenzzahl
1	10	B.	P.	10
2	14	„	„	0
3	11	„	„	8
4	18	„	„	0
5	13	„	„	10
6	26	„	„	52 (?)
7	40	„	„	14
8	37	„	„	6
9	28	„	„	4
10	4	„	„	74 (?)
11	31 Agar	„	„	5
12	24	„	„	6
13	36	„	„	9
14	44	„	„	6
15	47	„	„	2
16	41	„	„	6
17	43	„	„	0
18	19	„	„	20
19	12	„	„	4
20	25	P.	P.	18

Man kann wahrhaftig nicht sagen, daß unsere Befunde für eine schädliche Rolle der Streptokokken im Darm sprechen und erst recht nicht, daß in irgend einer Weise das Hinübergelangen pathogener Streptokokken aus der Milch in den Säuglingsdarm, wie sie von Escherich und in noch viel bedeutenderem Umfange namentlich von seinen letzten Schülern angenommen wird, bewiesen wäre. Die im ganzen unbestreitbare Tatsache, daß die Streptokokken bei darmkranken Säuglingen in größerer Zahl die Fäzes bevölkern, genügt doch noch nicht zu derartigen Schlüssen, wenn sonst kein Unterschied besteht zwischen dem Streptokokkengehalt des kranken und gesunden Darms.

Nun wird man freilich zunächst sagen, daß doch die Escherichsche Schule das häufige Vorkommen von Streptokokken im Blut und im Urin bei enteritiskranken bzw. daran gestorbenen Kindern festgestellt habe. Wir müssen gestehen, daß wir uns vergeblich bemüht haben, die Angaben Jehles (30) über das Vorkommen von Streptokokken im Urin auf ihre



Berechtigung ausgiebig zu prüfen. Die technischen Schwierigkeiten sind bei kleinen Kindern recht erhebliche und selbst positive Befunde von Streptokokken in dem gewonnenen Urin sind unseres Erachtens nicht eindeutig. Es fehlen vor allen Dingen auch Kontrolluntersuchungen an kranken Kindern, die nicht an Enteritis leiden. Dasselbe gilt aber auch von den Leichenuntersuchungen. Bekanntlich kommen Streptokokken im Blute erwachsener Leichen ganz gewöhnlich (in 33 bis 50 Prozent) vor, und man streitet immer noch darüber, welchen Ursprungs sie sind, wie häufig sie ferner einer kadaverösen oder agonalen Einwanderung ihre Anwesenheit verdanken. In einem großen Teil der Fälle sind sie schließlich nicht an der ursprünglichen Krankheit beteiligt, sondern Erreger sekundärer Infektionen. Damit soll im Hinblick auf einzelne bakteriologisch-histologische Feststellungen Escherichs u. a. in der Darmwand durchaus nicht geleugnet werden, daß gelegentlich Enteritisfälle vorkommen, die ursprünglich auf Streptokokken zurückzuführen sind; Beispiele sind aber dafür bisher nur spärlich beigebracht worden.[1] Die weitere Frage, woher solche pathogene Streptokokken stammen, ist erst recht dunkel. Die in der Literatur berichteten Fälle von Infektionen durch Mastitismilch sind zum Teil zweifelhaft, mindestens aber sehr wenig zahlreich gegenüber der ungeheuer verbreiteten Einführung von Milch mastitiskranker Kühe. Ihre Bedeutung verlieren solche Fälle vollends gegenüber der jedem Tierarzt bekannten Tatsache, daß die Kälber mastitiskranker Kühe, die von diesen gesaugt werden oder die mit eiterhaltiger Milch gefüttert werden, nicht erkranken.

Nebenbei bemerkt verhalten sich ja die menschlichen Säuglinge auch nicht anders gegenüber der Milch ihrer mastitiskranken Mütter. Mindestens beweist das doch, daß Eiterkokken, seien es nun Strepto- oder Staphylokokken, in den Darm von Säuglingen eingeführt, gewöhnlich nicht Infektionen oder Eiterungen erzeugen. Nun meint freilich Petruschky (9) neuerdings, die Streptokokken wirkten mehr durch ihre Giftigkeit als durch ihre Infektiosität. Wir müssen gestehen, daß uns das noch viel unwahrscheinlicher vorkommt. Man denke an die ungeheuren Mengen von Streptokokken, die in der sauren Milch, in der Buttermilch, im Yoghurt, Laktobazillin, im Sauerkraut und zahlreichen anderen sauren Nahrungsmitteln dem Magen des Erwachsenen aber auch des Kindes, sei es roh, sei es gekocht, zugeführt werden, ohne Krankheit zu erzeugen. Ist man doch im Gegenteil neuerdings geneigt, alle diese Nahrungsmittel als sehr nützliche Diätetika zu betrachten.

[1] Es würde sich in ähnlichen Fällen empfehlen, die Streptokokken auf Hämolyse und Virulenzzahl zu prüfen.



Wenn die Streptokokken hier nicht Krankheitserreger sind, wie soll es der Fall sein bei der gewöhnlichen Marktmilch, die doch sehr viel weniger Streptokokken enthält als die genannten sauren Nährmittel? Petruschky erwidert darauf allerdings, die Säure hebe die Giftigkeit der Streptokokkenleiber auf. Beweise dafür gibt er aber nicht, wie er überhaupt auch nicht den geringsten experimentellen Beweis dafür erbringt. daß Streptokokkenleiber vom Darm aus giftig wirken. Durch zahlreiche Untersuchungen ist vielmehr bewiesen, daß die Leibesgifte von Bakterien beliebiger Art vom gesunden Darm aus so gut wie gar nicht schädlich sind, daß ferner auch die parenterale Giftigkeit von Bakterienleibern durch vorherige Behandlung mit Säuren nicht aufgehoben wird. Es kommt noch hinzu, daß die Streptokokkenleiber der Marktmilch doch auch in dem gesunden Magen der Säuglinge auf den sauren Magensaft stoßen und also nach Petruschky selbst dort entgiftet werden müßten. Von welchem Gesichtspunkte man also die bisher besprochenen Streptokokkentheorien betrachtet, in keiner Weise sind sie geeignet, uns die Entstehung der Säuglingsenteritis zu erklären.

Vielleicht könnten nun freilich auch nach unserer Ansicht (vgl. Kruse, Allgemeine Mikrobiologie, S. 807) die im normalen Darm regelmäßig vorhandenen Streptokokken unter Umständen doch zu Krankheitserregern werden, indem sie nämlich in einem Darm, der durch irgendwelche Einflüsse in Unordnung gekommen ist, zur Vermehrung gelangen und nun, sei es durch ihre Menge, sei es durch das Überwuchern besonders pathogener Individuen unter ihnen, die Krankheit im Darm steigern, hin und wieder auch in das Innere der Darmwand eindringen und sogar eine Art von Allgemeininfektion bewirken. Wir hätten es dann nicht mit einer Fremdinfektion, deren Erreger von außen kommen, sondern mit einer Selbstinfektion bzw. Selbstvergiftung zu tun. Daß die in der Nahrungsmilch vorhandenen Keime oder ihre Produkte zu Störungen im Darm Anlaß geben können, wurde bisher allgemein angenommen und ist ja auch gerade für den Säugling nicht unwahrscheinlich. Leider wissen wir aber über die Bedeutung der einzelnen Bakterien und der von ihnen erzeugten Stoffe so gut wie nichts, dürfen aber wohl annehmen, daß die abnorme Beschaffenheit der Kuhmilch, die durch Bakterien hervorgerufen wird, im Darm empfindlicher Kinder nicht anders — wenn auch wohl häufiger — Störungen hervorrufen wird, wie es manchmal schon die artfremde Beschaffenheit der Kuhmilch (selbst im reinsten Zustande) oder wie es noch viel öfters die von der Muttermilch noch mehr abweichende Zusammensetzung anderer Nährmittel zu tun scheint. Auch der Auffassung Meinerts (60) und anderer neuerer Forscher kommen wir darin entgegen, indem wir annehmen möchten, die eben erwähnte besondere



Empfindlichkeit vieler Säuglinge für Darmstörungen werde durch Überhitzung gesteigert, weichen aber darin ab, daß dieser Hitzeeinfluß nur disponierend wirkt auf die Entstehung der Darmstörung, diese selbst aber wesentlich hervorgerufen wird durch die abnorme Beschaffenheit der Nahrung. In dem physiologisch gestörten Darm des Säuglings machen sich eben Selbstinfektionen und Selbstvergiftungen, die von verschiedenen Bewohnern des normalen Darmes, unter Umständen vielleicht auch von Streptokokken, ausgehen, geltend, während sie im normalen Darm, wie wir ihn namentlich beim natürlich genährten Säugling finden, ausbleiben.

Schlußfolgerungen.

Aus meinen Versuchen ziehe ich folgende Schlüsse.

I. Die in jeder Milch enthaltenen Streptokokken sind weder im Tierversuch, noch im Freßversuch mit Leukozyten virulent und zeigen keine Hämolyse im Menschenblut wie die meisten pyogenen Streptokokken des Menschen. Dasselbe gilt im großen ganzen für die Streptokokken der chronischen Rindermastitis.

II. Streptokokken sind regelmäßige Darmbewohner der Menschen und der Tiere und verhalten sich in allen Beziehungen sehr ähnlich wie die gewöhnlichen Milchstreptokokken, gleichviel ob sie vom gesunden oder darmkranken Kinde stammen. Die Annahme, daß diese Streptokokken aus der Kuhmilch, insbesondere aus Mastitismilch herrühren, ist durch nichts bewiesen. Vielmehr könnte es, allerdings nur beim Tiere, umgekehrt so liegen, daß die Streptokokken der Milch aus dem Darm stammen. Freilich sind auch die anderen Schleimhäute des Menschen und der Tiere regelmäßig mit Streptokokken besetzt und Streptokokken vom Typus des Streptococcus lacticus so weit verteilt in der Außenwelt, daß auch andere Quellen für die Milch- und Darmstreptokokken reichlich gegeben sind.

III. Eine pathogene Rolle der gewöhnlichen Milchstreptokokken ist nicht anzunehmen, aber auch die Bedeutung der eigentlichen Mastitisstreptokokken für die Entstehung von Darmkrankheiten ist sicher außerordentlich überschätzt worden.

IV. Ebenso scheint auch die Häufigkeit der Streptokokkenenteritiden sehr viel geringer zu sein, als die Escherichsche Schule es behauptet hat, und ihre Herkunft ist ganz zweifelhaft.

V. Selbstverständlich ist trotzdem, daß die Bekämpfung der Mastitis unter dem Rindvieh aus allgemein hygienischen ebenso wie aus wirtschaftlichen Gründen zu erfolgen hat. Mastitismilch ist eben eine verdorbene Milch und als solche vom Genuß möglichst auszuschließen.

Literatur-Verzeichnis.

1. Th. Escherich, Über Streptokokkenenteritis im Säuglingsalter. *Jahrbuch für Kinderheilkunde.* 1899. Bd. IL. S. 162.

2. H. Jäger, Über die Möglichkeit tuberkulöser Infektion des Lymphsystems durch Milch und Milchprodukte. *Hygien. Rundschau.* 1899. Bd. IX. Nr. 16. S. 801.

3. Eastle's, The pathology of milk. *Brit. med. Journ.* 1899. Vol. II. p. 1341. Ref. im *Archiv f. Kinderheilkunde.* 1903. S. 153 und von v. Lingelsheim, Kolle-Wassermann. Bd. III. S. 399.

4. M. Beck, Experimentelle Beiträge zur Untersuchung über die Marktmilch. *Deutsche Vierteljahrsschrift für Gesundheitspflege.* 1900. Bd. XXXII. S. 430ff.

5. W. Kruse, Das Verhältnis des Milchsäurebacteriums zum Streptococcus lanceolatus (Pneumoniecoccus, Enterococcus usw.). *Centralblatt für Bakteriologie.* 1903. Bd. XXXIV. Nr. 8.

6. Derselbe, *Allgemeine Mikrobiologie.* Leipzig 1910. §§ 97 u. 111.

7. J. Petruschky und M. Kriebel, *Die Ursache der Sommersterblichkeit der Säuglinge und die Möglichkeit ihrer Verhütung.* Leipzig 1904.

8. Schlossmann, Seiffert, Über Kindermilch, Referate, vorgetragen auf der 21. Versammlung der Gesellschaft für Kinderheilkunde (76. Versammlung der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Ärzte) Breslau 1904. Dazu Diskussion: Schlossmann, Seiffert, Petruschky, Rabinowitsch, Brüning, Piorkowski. *Archiv f. Kinderheilkunde.* Bd. XL.

9. J. Petruschky, a) Weitere Studien zur Frage der Milchverderbnis als Ursache der Säuglingssterblichkeit. Vortrag, gehalten auf der Naturforscherversammlung zu Köln 1908. *Gesundheit.* 1908. Nr. 21, 22 und Leipzig 1908. — b) Weitere Studien zur Milchverderbnis und die neue Danziger Polizeiverordnung, betreffend den Milchverkehr. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1909. S. 939. — c) Weitere Beobachtungen zur Frage des Vorkommens und der Bedeutung der Streptokokken in der Milch. *Gesundheit.* 1911. Nr. 11.

10. Nocard et Mollereau, Sur une mammite contagieuse. *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1883. T. I. — Zit. nach Th. Kitt, Euterentzündungen und deren Erreger. Kolle-Wassermann, *Handbuch der path. Mikroorganismen.* 1903.

11. A. Holst, Über Kettenkokken und Euterentzündungen als Ursache einer akuten Gastroenteritis beim Menschen. Autoreferat in den *Jahresberichten der path. Mikroorganismen.* 1895. Bd. XI. S. 52.



12. Bergey, Source and nature of bacteria in milk. *Commonwealth of Pennsylvania, Department of agriculture.* 1904.

13. R. Trommsdorff, Die Milchleukozytenprobe. *Münchener med. Wochenschrift.* 1906. Nr. 2. S. 541.

14. W. Rullmann und R. Trommsdorff, Milchhygienische Untersuchungen. *Archiv für Hygiene.* 1906. Bd. LIX. S. 224.

15. Eingehende Referate findet man bei Jensen, *Grundriß der Milchkunde u. Milchhygiene.* Stuttgart 1903. — Rievel, *Handbuch der Milchkunde.* Hannover 1907. — Fleischmann, *Lehrbuch der Milchwirtschaftt.* 1908. — Sommerfeld, *Handbuch der Milchkunde.* Wiesbaden 1909. — Löhnis, *Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie.* Berlin 1910.

16. J. Baehr, Vorkommen und Bedeutung der Streptokokken in der Milch. *Archiv für Hygiene.* 1910. Bd. LXXII.

17. W. Ernst, Über Milchstreptokokken und Streptokokkenmastitis. *Monatshefte für prakt. Tierheilkunde.* 1909. Hft. 9—12. — 1910. Hft. 1 u. 2.

18. Sv. Wall, *Die Euterentzündungen der Kuh.* Stuttgart 1908.

19. C. J. Koning, Biologische u. biochemische Studien über Milch. *Pharmac. Weekblad.* Juni-Novbr. 1905. Übersetzt von Kaufmann im *Milchwirtschaftlichen Centralblatt.* 1905, 1907, 1908.

20. W. Rullmann, Über den Enzym- und Streptokokkengehalt aseptisch entnommener Milch. *Archiv für Hygiene.* 1910. Bd. LXXIII.

21. Seibold, Keimgehalt unter aseptischen Kautelen gewonnener Milch. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1910. Bd. LV.

22. W. Meyer, Beitrag zur Kenntnis der durch Streptokokken verursachten Euterentzündung der Kühe. *Archiv f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilkunde.* 1910. Bd. XXXVI.

23. E. Baumann, Beiträge zur Unterscheidung der Streptokokken. *Münchener med. Wochenschrift.* 1906. Nr. 25.

24. E. Salomon, Zur Unterscheidung der Streptokokken durch kohlehydrathaltige Nährböden. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XLVII. S. 1.

25. C. E. A. Winslow and G. T. Palmer, A comparation study of intestinal streptococci from the horse, the cow and man. *Journ. of infect. diseases.* 1910. Vol. III. Nr. 1. p. 1.

26. D. D. Todd, A new color medium for the isolation and differentiation of streptococci. *Ebenda.* 1910. Vol. III. Nr. 1. p. 73.

27. P. Th. Müller, Über Streptokokken in der Milch. *Archiv für Hygiene.* 1906. Bd. LVI. S. 90.

28. Th. Kitt, Euterentzündungen und deren Erreger. Kolle-Wassermann, *Handbuch der pathog. Mikroorganismen.* 1903.

29. Nieter, Zur Streptokokkenfrage. *Diese Zeitschrift.* 1907. Bd. LVI. S. 307.

30. L. Jehle, Über Streptokokkenenteritis und ihre Komplikationen. *Jahrbuch für Kinderheilkunde.* 1907. Bd. LXV. Erg.-Hft. S. 40.

31. M. Pincherle, Klinisch-biologischer Beitrag zur Lehre der Streptokokkenenteritis. *Archiv für Kinderheilkunde.* 1910. Bd. LII. S. 324 ff.

32. v. Streit, *Inaug.-Dissertation.* Bonn 1897.

33. W. Zangemeister, Die Hämolyse der Streptokokken. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 10 u. 11.

34. Natwig, *Archiv für Gynäkologie.* Bd. LXXVI. S. 800.

35. Heynemann, *Ebenda.* Bd. LXXXVI. S. 11.



36. G. Bachrach und E. Grafe, Über die Empfindlichkeit der Blutarten gegenüber hämolytischen Giften. *Archiv für Hygiene.* 1909. Bd. LXX.

37. Kerner, *Centralblatt für Bakteriologie.* Orig. Bd. XXXVIII. S. 223.

38. E. Gernhardt, Quantitative Spaltpilzuntersuchungen der Milch. *Inaug.-Diss.* Dorpat 1893. — Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1894. Bd. XX. S. 313.

39. Brüning, Untersuchungen über die Leipziger Marktmilch mit besonderer Berücksichtigung der in derselben nachweisbaren Streptokokken. *Jahrbuch f. Kinderheilkunde.* 1905. Bd. LXII. S. 1.

40. P. G. Heinemann, Die Pathogenität des Streptococcus lacticus. *Journ. of infect. diseases.* 1906. Vol. III. p. 173.

41. Lameris und van Harrevelt, Bakterienbefund in Kuhmilch nach abgeheilter Mastitis. *Zeitschrift f. Fleisch- u. Milchhygiene.* 1901. Bd. XI. S. 114.

42. Reed and Ward, Concerning the presence of streptococci in the healthy udder of a cow. *Journ. of the Boston Soc. of med. science.* 1901. Vol. V. p. 387. — Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXX. S. 83.

43. Gröning, Vergleichende Untersuchungen über die Streptokokken des Kuheuters, des Rinderdarms und des Stallbodens. *Diss. med. veter.* Bern 1901. — Zit. nach Löhnis, a. a. O.

44. G. Rühm, Zur Frage der Pathogenität der Streptokokkenmilch. *Wochenschr. f. Tierheilkunde und Viehzucht.* 1908. Bd. LII.

45. Th. J. Bürgers, Über Virulenzbestimmung der Streptokokken. *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1910. Bd. XXXIV.

46. Hirsch, Über einen Fall von Streptokokkenenteritis bei einem Kinde. *Ebenda.* 1897. Bd. XXII. Abt. I. S. 369.

47. Libmann, Weitere Mitteilung über die Streptokokkenenteritis bei Säuglingen. *Ebenda.* 1897. Bd. XXII. Abt. I. S. 376.

48. Spiegelberg, Ein weiterer Beitrag zur Streptokokkenenteritis im Säuglingsalter. *Ebenda.* 1898. Bd. XXIV.

49. Booker, A bacteriological and anatomical study of the summer-diarrhoes of infants. *John Hopkins Hosp. Reports.* Vol. III.

50. Blum, *Arch. of Ped.* 1904.

51. Knochenstierna, Über den Keimgehalt der Dorpater Marktmilch nebst einigen bakteriologischen Untersuchungen von Frauenmilch. *Inaug.-Diss.* Dorpat 1893.

52. K. Szegô, Die Darmmikroben der Säuglinge und Kinder. *Archiv f. Kinderheilkunde.* 1897. Bd. XXII. S. 25.

53. A. Palleske, Über den Keimgehalt der Milch gesunder Wöchnerinnen. Virchows *Archiv.* 1894. Bd. CXXX. S. 185.

54. Tissier, *Recherches sur la flore intestinale des nourrissons.* Paris 1900.

55. Th. Escherich, *Die Darmbakterien des Säuglings.* Stuttgart 1886.

56. W. Kruse und Pasquale, *Diese Zeitschrift.* 1894. Bd. XVI. S. 1.

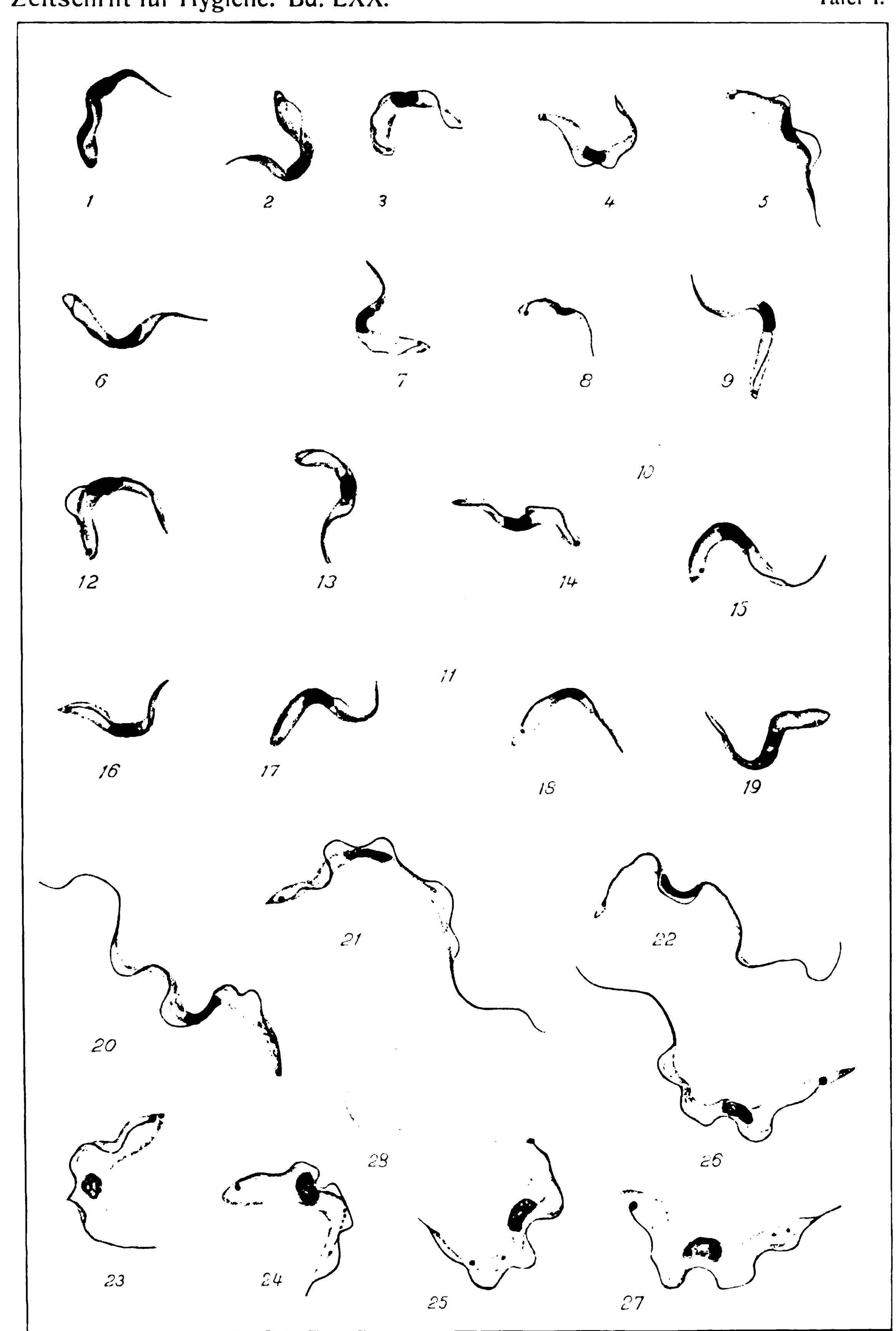
57. P. Cohnheim, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1902. S. 362.

58. L. Jehle, Eine einfache Methode zur sterilen Stuhlentnahme bei Kindern. *Münchener med. Wochenschrift.* 1905. S. 2329.

59. T. J. Sato, Ein praktischer Stuhlentnehmer. *Med. Klinik.* 1908. Hft. 9.

60. Meinert, Wo stehen wir mit der Bekämpfung der Säuglingssterblichkeit? *Soziale Medizin und Hygiene.* 1908. Bd. III. S. 637—648.





Verlag von VEIT & COMP., Leipzig.

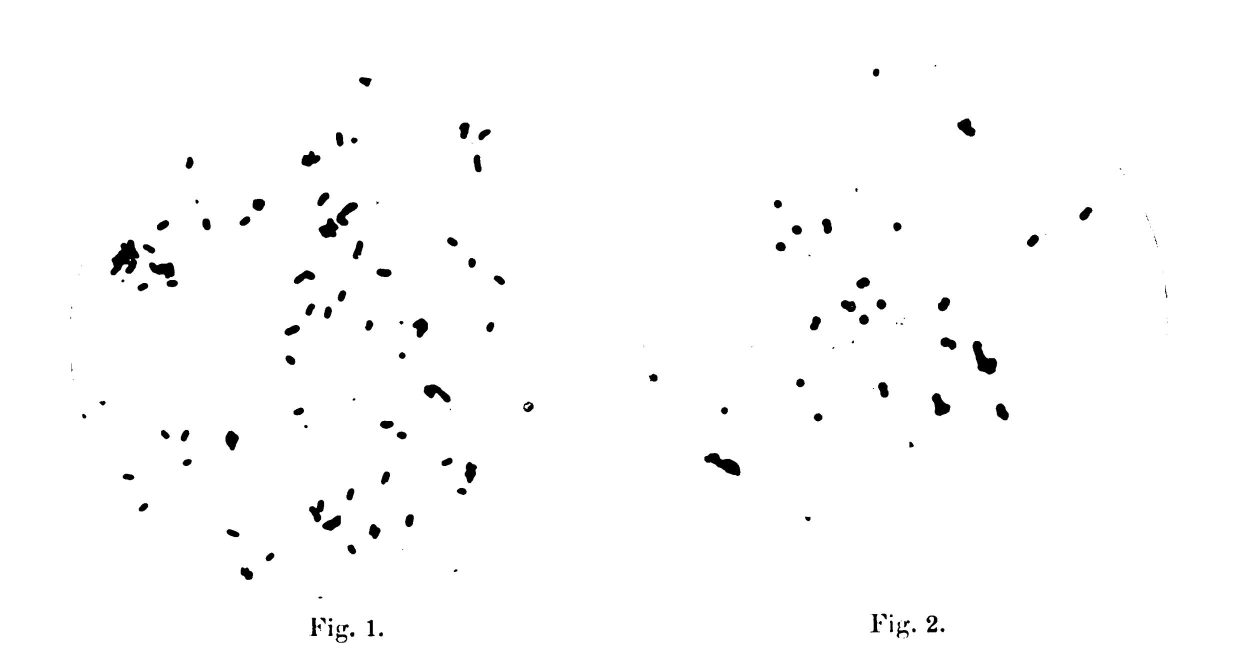


Fig. 1. Fig. 2.

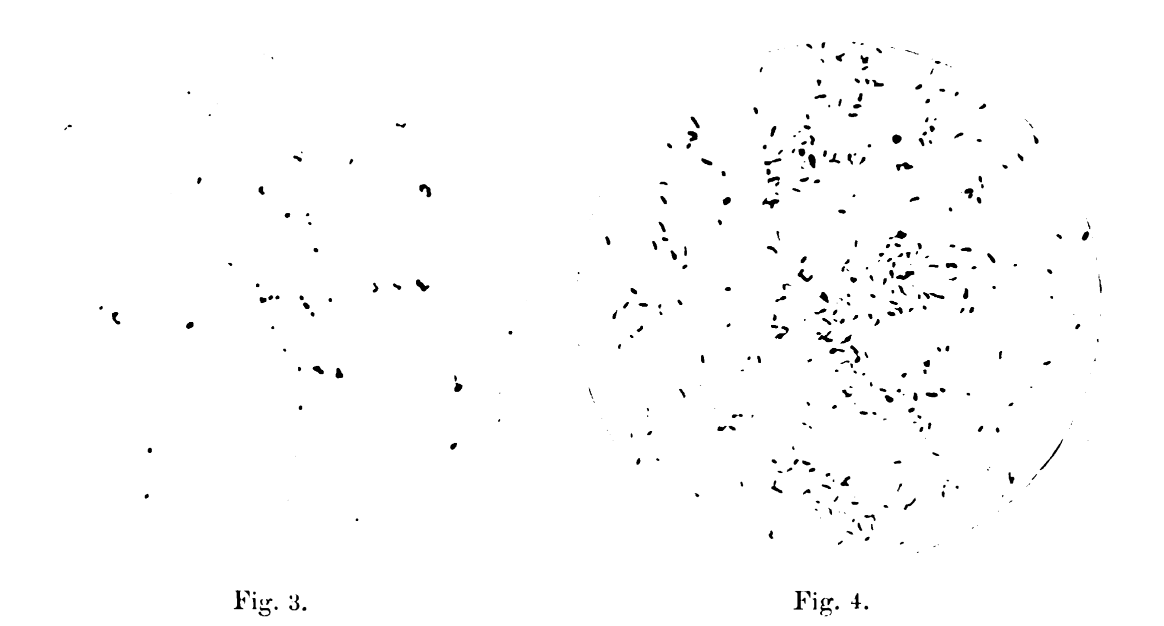
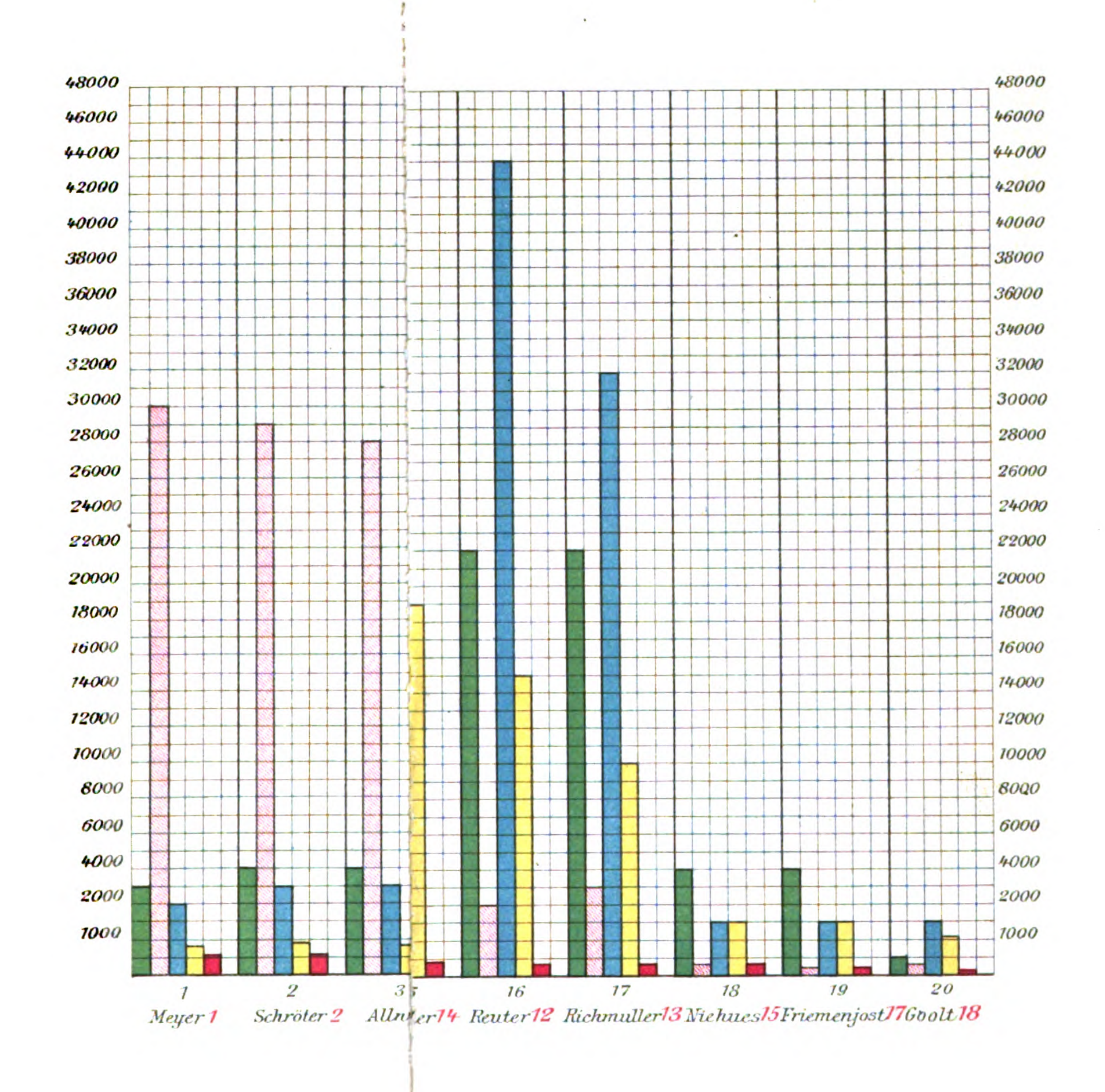
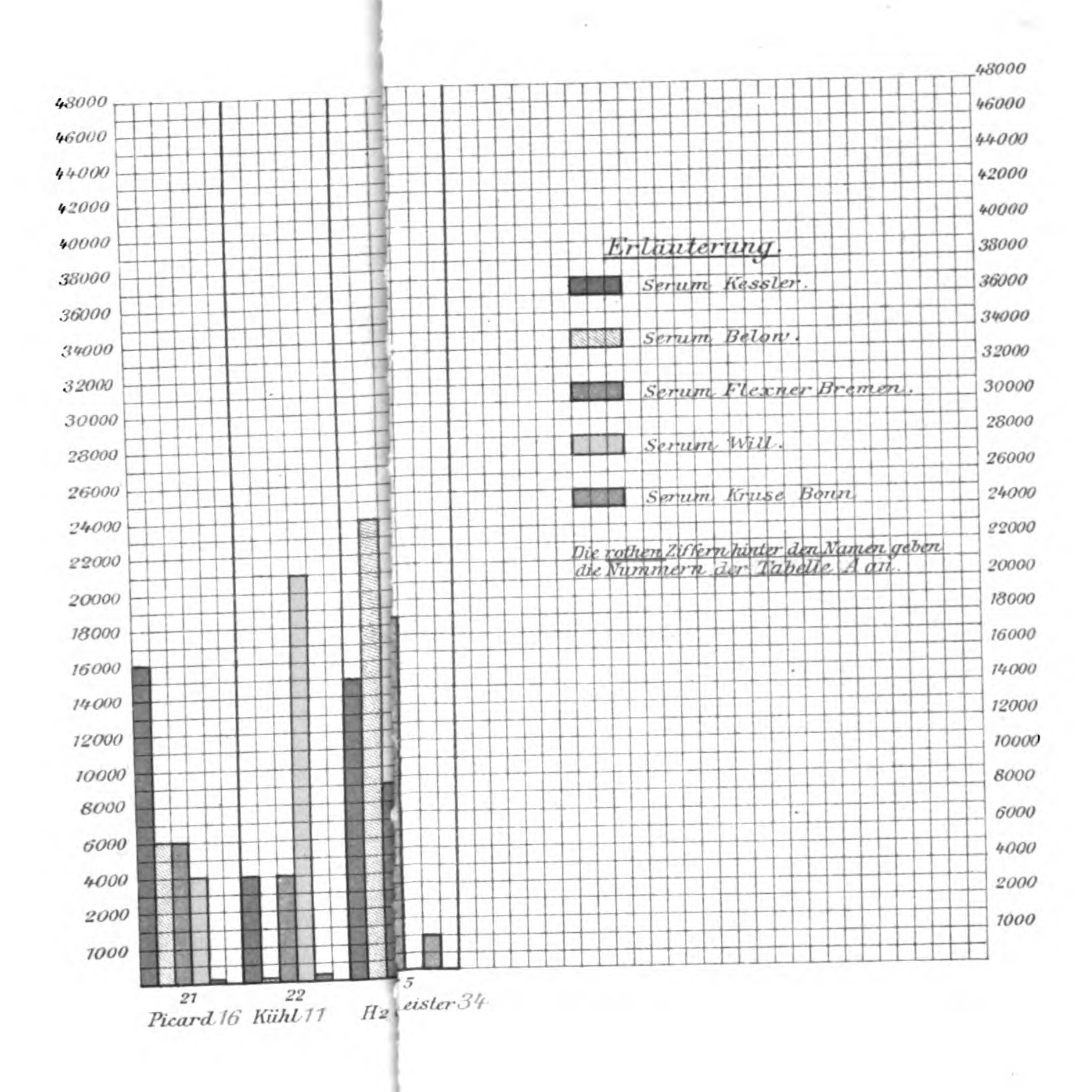


Fig. 3. Fig. 4.

Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.



Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.



Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

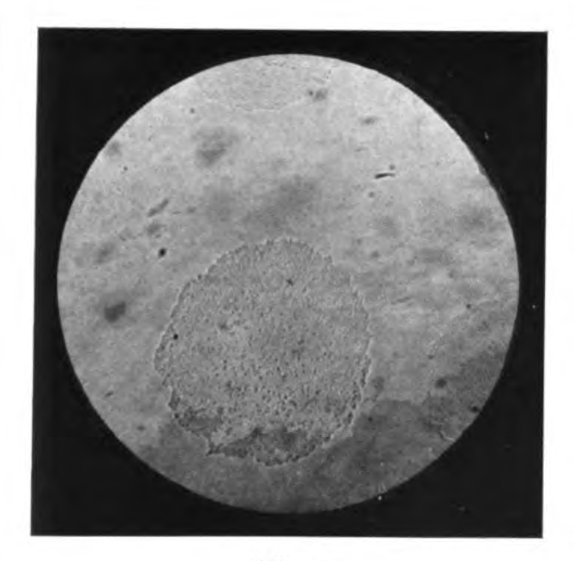


Fig. 1.

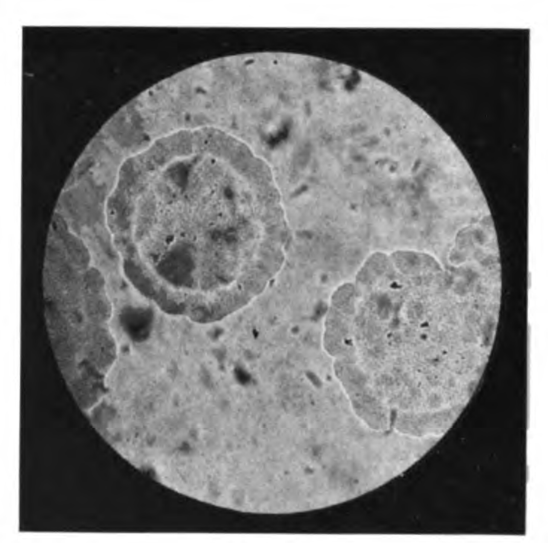


Fig. 2.

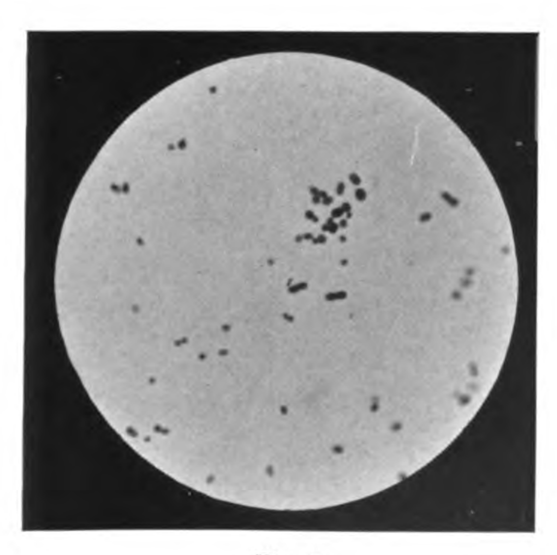


Fig. 3.

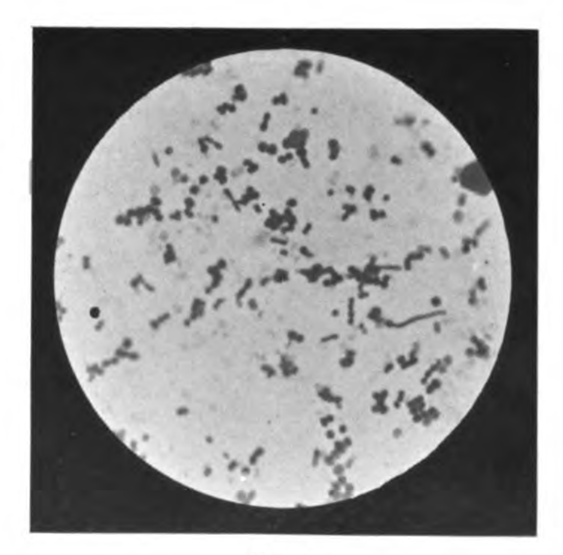


Fig. 4.

Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.

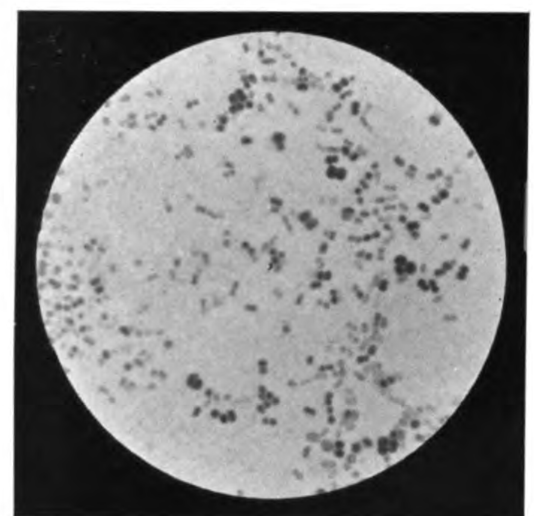


Fig. 5.



Fig. 6.

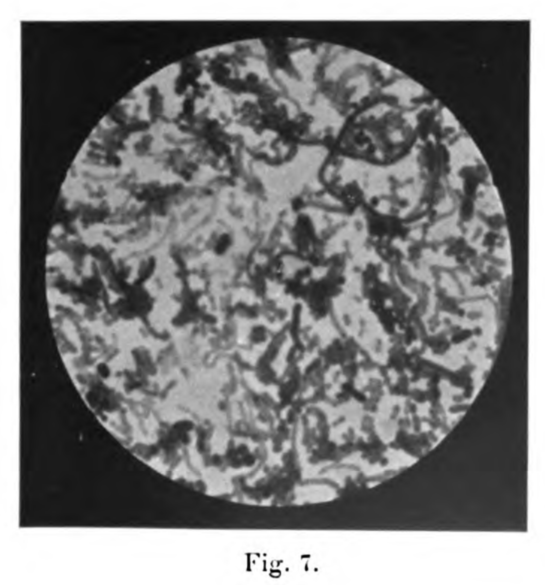


Fig. 7.

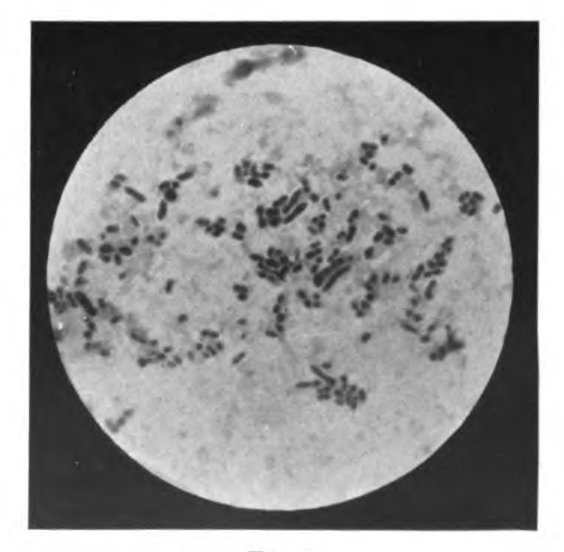
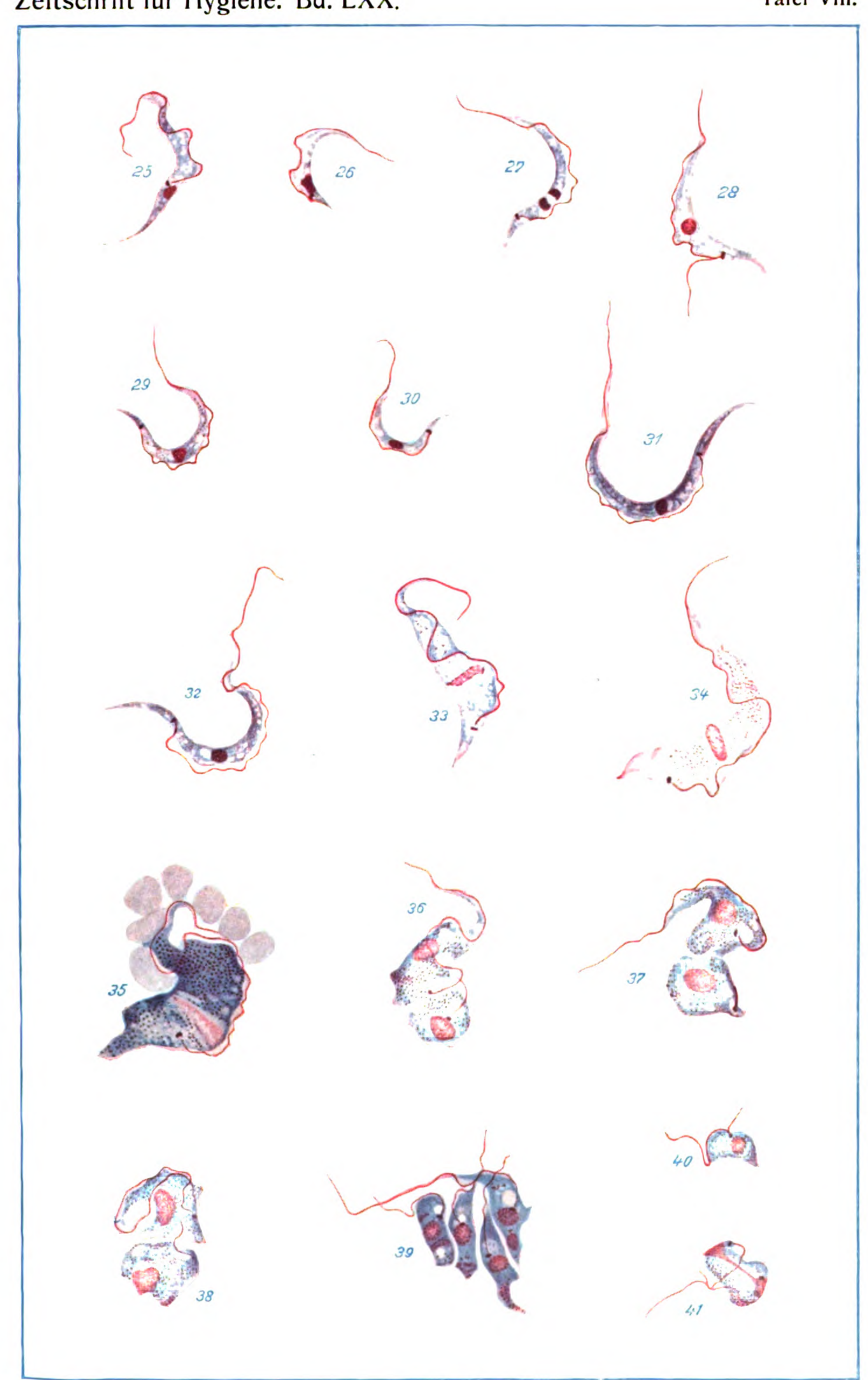


Fig. 8.

Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.

Tafel VII.

Verlag von VEIT & COMP., Leipzig.



Verlag von VEIT & COMP., Leipzig.


12068

